

Die Rolle von BNP und NT-proBNP bei der Überwachung nach pädiatrischer Herztransplantation

Inauguraldissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Freudenthal, Noa Judith
aus Berlin

Gießen 2013

Aus dem Institut für Klinische Chemie und
Laboratoriumsmedizin
an der Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH
Standort Gießen
und der Abteilung für Kinderkardiologie
der Kinderklinik an der Universitätsklinikum Gießen und
Marburg GmbH
Standort Gießen

Gutachter: Prof. Dr. N. Katz

Gutachter: Prof. Dr. H. Akintürk

Tag der Disputation: 11.03.2014

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Natriuretische Peptide	1
1.1.1	Genetik	1
1.1.2	Natriuretische Peptid Rezeptoren	2
1.1.3	Abbau von natriuretischen Peptiden	3
1.1.4	Biologische Wirkung	3
1.1.5	Pathophysiologie	4
1.1.6	Klinische Chemie	4
1.1.7	Diagnostische Bedeutung von BNP	5
1.2	Pädiatrische Herztransplantation	7
1.2.1	Transplantation	7
1.2.2	Herztransplantation	7
1.2.3	Immunologie und Immunsuppression	9
1.3	BNP und Herztransplantation	12
1.3.1	Normwerte nach Herztransplantation	12
1.3.2	Beeinflussung des BNP-Spiegels	12
1.3.3	Die Rolle von BNP in der Abstoßungsdiagnostik	14
2	Material und Methoden	16
2.1	Studiendesign	16
2.1.1	Probanden	16
2.1.2	Einschluss- und Ausschlusskriterien	18
2.1.2.1	Referenzgruppe	18
2.1.2.2	Herztransplantierte Patienten	19
2.2	Datenerfassung	19
2.2.1	Diagnostik	20
2.3	Statistische Auswertung	21
2.3.1	Deskriptive Statistik	21
2.4	Analytische Statistik	22
2.5	Datenverarbeitung	24
3	Ergebnisse	25
3.1	Gesunde Kinder	25
3.1.1	Referenzwerte von BNP im Kindesalter	26
3.1.2	Referenzwerte von NT-proBNP im Kindesalter	28
3.1.3	Vergleich von BNP und NT-proBNP-Werten bei gesunden Kindern	30
3.2	Kinder nach orthotoper Herztransplantation	31
3.2.1	Verteilung der BNP-Werte nach pädiatrischer orthotoper Herztransplantation	33
3.2.2	Vergleich von BNP-Werten herztransplantierter mit denen gesunder Kinder	34
3.2.3	BNP-Werte transplantierte Kinder in Abhängigkeit vom Alter	34

3.2.4	BNP-Werte transplan­ti­er­ter Kin­der in Ab­hän­gig­keit von dem seit Trans­plan­ta­tion ver­strich­en­en In­ter­vall	36
3.2.5	BNP-Werte transplan­ti­er­ter Kin­der in Ab­hän­gig­keit vom Ge­schlecht	37
3.2.6	Ver­tei­lung der NT-proBNP-Werte nach pä­di­a­trischer Herz­trans­plan­ta­tion	38
3.2.7	Ver­gleich von NT-proBNP-Werten herz­trans­plan­ti­er­ter mit denen ge­sun­der Kin­der	38
3.2.8	NT-proBNP-Werte transplan­ti­er­ter Kin­der in Ab­hän­gig­keit vom Al­ter	39
3.2.9	NT-proBNP-Werte transplan­ti­er­ter Kin­der in Ab­hän­gig­keit von dem seit Trans­plan­ta­tion ver­strich­en­en In­ter­vall	40
3.2.10	NT-proBNP-Werte transplan­ti­er­ter Kin­der in Ab­hän­gig­keit vom Ge­schlecht	42
3.2.11	Ver­gleich von BNP und NT-proBNP-Werten bei herz­trans­plan­ti­er­ten Pa­tien­ten	42
3.3	Nierenfunktion und natriuretische Peptide	42
3.4	Zusammenhang zwischen BNP und klinischer Verschlechterung	45
3.4.1	Das Verhalten von BNP während eines Events	45
3.4.2	Risikoeinteilung nach dem ersten BNP-Wert	47
3.4.3	Zusammenhang zwischen Häufigkeit von Events und BNP-Wert	48
3.5	Individuelle Variabilität der BNP-Werte herztransplan­ti­er­ter Pa­tien­ten	50
3.5.1	Zusammenhang zwischen Variabilität und Events	52
4	Diskussion	53
4.1	Referenzwerte der natriuretischen Peptide bei Kindern	53
4.1.1	BNP	53
4.1.2	NT-proBNP	54
4.1.3	Einfluss des Lebensalters	54
4.1.4	Einfluss des Geschlechts	55
4.1.5	Der Zusammenhang zwischen BNP und NT-proBNP	55
4.1.6	Zusammenfassung Referenzwerte	56
4.2	Natriuretische Peptide nach pä­di­a­trischer Herz­trans­plan­ta­tion	56
4.2.1	BNP-Werte bei herztransplan­ti­er­ten Kin­dern	56
4.2.2	NT-proBNP-Werte bei herztransplan­ti­er­ten Kin­dern	57
4.2.3	Ursache für Erhöhung der Natriuretischen Peptide im Serum nach Herztransplantation	57
4.2.4	BNP und NT-proBNP im Vergleich	59
4.2.5	Einfluss des Alters	59
4.2.6	Einfluss der Zeit seit der Transplantation	60
4.2.7	Einfluss des Geschlechts	61
4.2.8	Der Zusammenhang zwischen natriuretischen Peptiden und der Nierenfunktion	61
4.2.9	Abstoßungsdiagnostik	62
4.2.10	Die Rolle von BNP in der Abstoßungsdiagnostik	63

4.2.11	Die klinische Rolle von BNP und NT-proBNP bei herztransplantierten Kindern	64
4.2.12	Beeinflussung der Plasma Konzentrationen	65
4.2.13	BNP und NT-proBNP als Risikoindikator für Ereignisse	65
5	Zusammenfassung	66
6	Abstract	67
	Abkürzungsverzeichnis	68
	Abbildungsverzeichnis	70
	Tabellenverzeichnis	71
	Literatur	72

1 Einleitung

Die Betreuung von Patienten nach einer Herztransplantation ist eine schwierige Aufgabe, gilt es doch die Balance zwischen der nötigen Immunsuppression und deren Nebenwirkungen einzuhalten. In ganz besonderem Maße trifft dies nach Herztransplantationen im Kindesalter zu. Dabei sind wegen der fehlenden Innervation des Herzens die Symptome einer Abstoßung maskiert und bisher sind keine eindeutigen biochemischen Marker für eine drohende oder beginnende Abstoßung bekannt. Mit der Einführung der natriuretischen Peptide in die kardiale Diagnostik stehen nunmehr erstmals biochemischen Indikatoren für die Funktion des Myokards zur Verfügung. Ziel dieser Arbeit ist die Beurteilung der diagnostischen Wertigkeit von BNP und NT-proBNP bei der Überwachung von Patienten nach pädiatrischer orthotoper Herztransplantation. Hierfür mussten zunächst Referenzbereiche für BNP und NT-proBNP im Kindesalter ermittelt werden, die dann mit den Werten der herztransplantierten Patienten verglichen werden.

1.1 Natriuretische Peptide

Zur Familie der natriuretischen Peptide gehören ANP (atrial natriuretic peptide), BNP (brain/B-type natriuretic peptide), CNP (C-type natriuretic peptide), DNP (D-type natriuretic peptide) und Urodilatin („renale“ Form von ANP). ANP und BNP werden vor allem von myoendokrinen Zellen des Herzens synthetisiert und mittels Exozytose freigesetzt. Neben dem Herzen als hauptsächlicher Syntheseort sowie Niere und Gefäßsystem als hauptsächlichen Zielorgane sind Synthese und Rezeptoren dieser Peptide in vielen anderen Organen nachzuweisen. Die biologische Wirkung dieser Peptide besteht vor allem in der Steigerung von Natriurese, Diurese und Vasodilatation [27]. Damit sind natriuretische Peptide die wichtigsten Antagonisten des RAAS (Renin-Angiotensin-Aldosteron-System). Ihre Hauptfunktion ist die Reduktion des Plasmavolumens und dadurch die Senkung des Blutdrucks [50]. Allen natriuretischen Peptiden gemeinsam ist ein über eine Disulfidbrücke gebildetes cyclisches Peptid aus 17 AS, an das variable carboxy- und aminoterminal Peptidreste gebunden sind [50]. Über diesen Ring binden die Peptide an spezifische ektozelluläre Rezeptoren, werden internalisiert, entfalten ihre physiologische Wirkung und werden intrazellulär abgebaut [50].

1.1.1 Genetik

Die Gene für ANP (NPPA) und BNP (NPPB) befinden sich auf Chromosom 1 p36.3 und werden im Cluster vererbt [50] [27].

Das Gen NPPB (NPPB – natriuretic peptide precursor BNP) besteht aus zwei Exons und einem Intron, es codiert für ein 108 Aminosäuren langes Peptid, welches weiter prozessiert wird. Es erfolgt eine proteolytische Spaltung des ProBNP in das N-terminale NT-proBNP und in das C-terminale, biologisch aktive, 32 Aminosäuren lange BNP [50] [70]. BNP wird im Vorhof und im Ventrikel produziert, die Hauptmenge stammt wegen der größeren Muskelmasse aus dem Ventrikel [50] [70]. BNP wird im Gegensatz zu ANP nicht nennenswert in Granula gespeichert; bei einem adäquatem Reiz zum Beispiel Dehnung der Herzwand kommt

es daher nicht wie bei ANP zur sofortigen Ausschüttung aus den Granula. Beim BNP kommt es vielmehr zu einer Erhöhung der Transkriptionsrate und erst später zum Anstieg der Plasmakonzentration. Bei einer Hypoxie kommt es so nach ca. zwei Stunden zu einer signifikanten Zunahme von BNPmRNA im Ventrikelmuskulatur auch in Abwesenheit eines mechanischen Stimulus (Abb. 1). BNP-Rezeptoren im Herzen selbst sprechen für eine parakrine Funktion von BNP. Diese bewirkt unter anderem eine Vasodilatation, so dass die Ausschüttung von BNP unter Hypoxie wieder eine Verbesserung der myokardialen Versorgung nach sich zieht [31] [22].

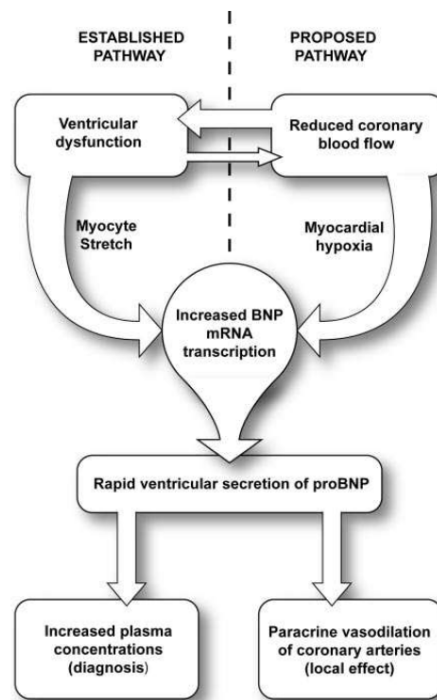


Abbildung 1: Stimulationen für die Synthese von BNP. Entnommen aus [31] .

BNP hat unter diesen Bedingungen weniger eine Fernwirkung, und ist mehr für den Schutz des Herzens selbst verantwortlich. Darüber hinaus exprimieren kardiale Fibroblasten die rezeptorgekoppelten Guanylat-Cyclase-A und Guanylat-Cyclase-B, die nach Bindung von BNP die Fibrogenese hemmen und so das Herz vor Fibrose zu schützen [47].

1.1.2 Natriuretische Peptid Rezeptoren

Die Guanylat-Cyclase Rezeptoren A und B sind transmembranäre Rezeptoren, die gewisse Ähnlichkeiten mit der löslichen Guanylat-Cyclase (Rezeptor für NO) aufweisen.

- NPRA (Natriuretischer Peptid Rezeptor A) kommt hauptsächlich in den Endothelien der großen Gefäße in der Niere und Nebenniere vor und bindet spezifisch ANP und BNP [50, 47]

- NPRB (Natriuretischer Peptid Rezeptor B) kommt vor allem im Gehirn vor und bindet spezifisch CNP [50, 47]

Das durch Bindung der natriuretischen Peptide an dem Rezeptor gebildete cGMP dient als „second messenger“ und moduliert die Aktivität verschiedener Proteine in der Zelle; je nach der zellspezifischen Expression verschiedener Proteine unterscheiden sich die biologischen Effekte des cGMP [50, 47, 27].

1.1.3 Abbau von natriuretischen Peptiden

Für den Abbau von natriuretischen Peptiden sind neben der Internalisierung durch NPRA und NPRB und der intrazellulären Degradation zwei weitere Systeme verantwortlich:

NPRC Der Natriuretische Peptide Rezeptor - C dient als Clearance Rezeptor. Der Rezeptor wird samt Peptid internalisiert und das Peptid wird enzymatisch abgebaut, ohne dass damit offensichtlich eine Wirkung der Peptide verbunden ist. Der Rezeptor kehrt dann an die Zelloberfläche zurück. Die wichtigsten Organe für die Clearance der natriuretischen Peptide sind Lunge, Leber und Nieren [50, 27]. In vielen Organen ist NPRC der häufigste Rezeptor und bindet mit gleicher Affinität ANP, BNP und CNP [47].

NEP Die Neutrale Zink-abhängige Endopeptidase ist eine Metalloprotease die für einen relativ schnellen Abbau der zirkulierende natriuretische Peptide verantwortlich ist. Deren unterschiedliche Affinität zu den unterschiedlichen natriuretischen Peptiden, erklärt auch die unterschiedliche Halbwertszeit dieser Peptide (BNP 20 Minuten und ANP drei Minuten) [50].

Die Ausscheidung über die Niere scheint dagegen für NT-proBNP der wichtigste Clearance-Mechanismus zu sein. Die HWZ von NT-proBNP beträgt eine bis zwei Stunden [54].

1.1.4 Biologische Wirkung

Hauptwirkungen von BNP sind:

- Natriurese und Diurese: über Erhöhung der Natriumausscheidung und Diurese in der Niere
- Vasodilatation: über Erschlaffung von glatter Muskulatur, Inhibition von ACE (angiotensin converting enzyme) und Endothelin, und eine verminderte Aldosteron-Freisetzung [35] [4].
- Antiproliferative Wirkungen: es wird eine protektive Wirkung von BNP gegen die Entstehung von Myokardfibrose, die Proliferation von glatter Gefäßmuskulatur und die Entstehung von Thrombose vermutet [50]. Mäuse mit BNP-Defizienz zeigen keine Hypertonie oder Hypertrophie, es kommt jedoch zur Entstehung und Progression von Myokardfibrose [47].

- Neuromodulatorisch: durch Abnahme des Sympathikotonus [4].

Natriuretische Peptide können als Gegenspieler der antinatriuretischen, Gefäß-verengenden und Hypertonie-induzierenden Systeme wie RAAS, Sympathikus, Vasopressin und Endothelin aufgefasst werden [50]. Weiterhin können ANP, BNP und CNP die Apoptose in Rattenendothelzellen auslösen; dies spricht für eine potentiell wichtige Rolle im Remodeling Prozess nach Myokardinfarkt[50].

1.1.5 Pathophysiologie

Durch Volumen- bzw. Druckbelastungen des Herzens wird die Wandspannung erhöht. Dies führt zur vermehrten Freisetzung von natriuretischen Peptiden, welche sich protektiv auf das Herz auswirken und den mittelfristig entstehenden Umbauprozessen entgegen-wirken [50]. Eine akute Belastung führt zu Entleerung der Reserven und somit zunächst zum Anstieg von ANP, gleichzeitig kommt es zur vermehrten Transkription und mit geringer Zeitverzögerung zum Anstieg von BNP [50].

Im Rahmen der Entstehung einer Herzinsuffizienz kommt es zu einer Volumen- und/oder Druckbelastung, dadurch zum shear Stress des Myokards und somit zur Sekretion von ANP und BNP. Diese tragen zur Kompensation der Herzinsuffizienz bei und sind auch bei asymptomatischen Patienten nachweisbar. Im Laufe der Zeit verlieren sie jedoch an Effektivität und es kommt zu einer Resistenzentwicklung der Zielorgane [50, 47, 43]. Bei der dekompensierten Herzinsuffizienz (NYHA III-IV) ist ein weiterer Anstieg des BNP während des Krankenhausaufenthaltes ein Hinweis für eine schlechtere Prognose [54].

Bei Herzinfarkt setzen vor allem die Herzmuskelzellen, die dem Infarktgebiet angrenzen, vermehrt BNP frei. Die Konzentration des BNP's korreliert direkt mit der Sterblichkeit und negativ mit der Ejektionsfraktion. So gehen hohe BNP-Konzentrationen unmittelbar nach einem Infarkt mit einem erhöhtem Risiko für einen plötzlichen Herztod und mit Remodeling Vorgängen einher [50] [70]. Hohe BNP-Werte ein bis zwei Monate nach einem Herzinfarkt deuten auf ein stark erhöhtes Risiko für die Entwicklung von Remodeling und Herzinsuffizienz hin [54].

1.1.6 Klinische Chemie

BNP zirkuliert in geringere Konzentration als ANP im Blut gesunder Probanden; bei kardiallem Stress scheint aber die physiologische Funktion von BNP wichtiger zu sein. So führen Herzerkrankungen insbesondere zu einer Steigerung der Synthese und Freisetzung von BNP, so dass dessen Konzentration im Blut diejenige von ANP überschreitet [35]. Hierfür ist sicher auch die längere Halbwertszeit von BNP mitverantwortlich.

BNP

Bestimmung der Plasmakonzentration von BNP und NT-proBNP

- ANP ist auch in abgenommenen Blutproben sehr instabil, so dass ANP in die klinische Diagnostik keinen Eingang gefunden hat.
- Präanalytisch: zirkadiane Rhythmik oder Körperposition spielen keine Rolle. Die Verwendung von EDTA-Plasma ist für die Bestimmung von BNP essentiell, da das EDTA (Ethyldiamintetraessigsäure) divalente Ionen wie Calcium und Zink komplexiert und somit die Neutrale Endopeptidase hemmt.
- In EDTA-Blut ist BNP 24 Stunden bei Raumtemperatur stabil, bei -20°C können die Proben bis zu neun Monate gelagert werden.
- NT-proBNP weist auch in anderen Untersuchungsmaterialien eine gute Stabilität über Tage bei Raumtemperatur und Monate bei -20°C auf.
- zunächst sind die kompetitiven Methoden wie RIA (Radio Immuno Assay) und EIA (Enzym-Immuno-Assay) zur Bestimmung herangezogen worden. Nicht kompetitive sandwich Methoden werden zurzeit jedoch bevorzugt, da sie durch Verwendung von zwei Antikörpern eine höhere Spezifität aufweisen und in automatisierten Analyse-Systemen bestimmt werden können.
- Die obere Grenze des Referenzbereichs für BNP in jungen Erwachsenen liegt bei 12 pg/ml, die Plasmakonzentration von BNP ist bei Frauen höher und steigt mit dem Alter, sollte jedoch bei gesunden Probanden nicht über 50pg/ml steigen. Koch et al. [44] beobachteten bei gesunden Kindern einen Abfall der BNP-Werte vom Säuglingsalter bis zur Pubertät, nach der Pubertät Anstieg bis zum Erreichen von Erwachsenen Werten. [50, 54, 20]

Bestimmungsmethoden

Die ersten ANP und BNP-Tests basierten auf Radioimmunoassay-Methoden; ihre Durchführung war zeit- und personal aufwändig. Durchgesetzt hatten sich die BNP und NT-proBNP Bestimmungen in der Routinediagnostik ab 2001, als mit Sandwich-ELISAs oder Fluoreszenz-LISAs sensitive und präzise Tests zur Verfügung standen. In einer prospektiven Kohortenstudie wurden zwei Assays verglichen; ein POC Test (Fluoreszenz Immunoassay) und ein MEIA (Mikropartikel-Enzym-Immuno-Assay) mit monoklonalen Antikörper. Bei Patienten mit fortgeschrittener Herzinsuffizienz (NYHA II-IV¹) war bei Werten über 100 pg/ml die Sensitivität beider Methoden vergleichbar. Bei Patienten mit minimaler Herzinsuffizienz (NYHA I) zeigte dagegen das MEIA Assay eine höhere Sensitivität 74,4% gegenüber 55,8% beim POC-Test [79].

1.1.7 Diagnostische Bedeutung von BNP

BNP und NT-proBNP sind viel versprechende diagnostische Marker; einige Unterschiede zwischen den Beiden müssen beachtet werden, um die Werte richtig interpretieren zu können. Der

¹Die Herzinsuffizienz kann nach einem Schema der New York Heart Association in vier Stadien klassifiziert werden (NYHA I-IV)

NT-proBNP-Anstieg ist in einer akuten Situation stärker ausgeprägt als der des BNP; bedingt durch die längere HWZ des NT-proBNPs sind dessen Plasmaspiegel höher als die des BNP. Die Clearance von NT-proBNP findet fast ausschließlich in der Niere statt, daher ist bei Niereninsuffizienz die Beurteilung eines NT-proBNP-Wertes nur sehr eingeschränkt möglich [50]. Bei Nierengesunden sind beide Peptide als herzspezifische Marker gleichwertig anzusehen; diese Situation ändert sich jedoch bei einer Niereninsuffizienz, hier verliert NT-proBNP weitgehend seine herzspezifische diagnostische Aussage. BNP wird weniger vom Alter und der Nierenfunktion des Patienten beeinflusst, und sollte deswegen als Goldstandard in der Diagnostik der Herzinsuffizienz angesehen werden [54]. In einer Studie von Bruch et al. korrelierte NT-proBNP mit dem Risiko für klinische Verschlechterung in Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz, in der Abwesenheit aber auch in der Anwesenheit von chronischer Nierenerkrankungen [13].

Interpretation

BNP kann in der Diagnostik einer Herzinsuffizienz und in der Risikoeinschätzung nach einem Myokardinfarkt hilfreich sein. Bei BNP-Werten $< 100\text{pg/ml}$ ist eine Herzinsuffizienz unwahrscheinlich, liegt der BNP-Wert $> 100\text{pg/ml}$ ist eine Herzinsuffizienz selbst dann, wenn die typischen Symptome noch fehlen, wahrscheinlich. Bei bekannter Herzinsuffizienz ist eine Dekompensation bei Anstieg des BNP-Werts $> 50\%$ vom Ausgangswert wahrscheinlich. 2-4 Tage nach einem Herzinfarkt spricht ein BNP-Wert $> 400\text{pg/ml}$ für ein erhöhtes Mortalitätsrisiko [54, 16].

Beeinflussung der BNP-Plasmakonzentration

Bei der Beurteilung von BNP bzw. NT-proBNP müssen weitere Faktoren wie das Alter, das Geschlecht und das Gewicht der Patienten beachtet werden, auch die Berücksichtigung von eventuellen Vorerkrankungen ist entscheidend. BNP bzw. NT-proBNP zeigen eine inverse Korrelation mit dem BMI (Body Mass Index), wobei diese Korrelation mit der „lean mass“ gezeigt werden konnte und nicht mit der „fat mass“. Androgene unterstützen die Bildung von „lean mass“ und könnten auch das BNP supprimieren, Östrogene sind mit weniger „lean mass“ assoziiert und mit erhöhten BNP-Werten [19]. Medikamente wie zum Beispiel β -Blocker, Glucocorticoide und Schilddrüsenhormone können auch ohne bestehende Herzinsuffizienz zu einer Erhöhung der Plasmakonzentration von BNP führen. Dem gegenüber sinkt die Plasmakonzentration von BNP durch die Verabreichung von Medikamenten, die zur Behandlung der Herzinsuffizienz eingesetzt werden wie zum Beispiel Nitroprussid, ACE-Hemmer, Milrinon, Diuretika und Vasodilantien. Bei einer isolierten arteriellen Hypertonie, bei bestehendem Diabetes mellitus und bei leichter Niereninsuffizienz ist keine Erhöhung der BNP-Werte zu erwarten. Ausgeprägte Niereninsuffizienz, pulmonalerterielle Hypertonie, akute Lungenembolie und Leberzirrhose führen auch in Abwesenheit von Herzinsuffizienz zu erhöhten BNP-Werten. Weiterhin kommt es durch Hypoxie im Myokard beim akutem Koronarsyndrom und beim Herzinfarkt zu einer Erhöhung der BNP-Werte noch vor der Ausbildung einer Herzin-

suffizienz. Das hohe Lebensalter ist ebenfalls ein unabhängiger Faktor in der Erhöhung des BNP-Plasmaspiegels [54].

Therapeutische Aspekte

Trotz mehrerer Versuche scheinen therapeutische Ansätze mit natriuretischen Peptide bei essentieller Hypertonie, Nierenversagen und Herzinsuffizienz kein Benefit zu bringen. Dies könnte an einer kompensatorischen Aktivierung des RAAS (Renin Angiotensin Aldosteron System) und/oder an einer „down Regulation“ von NPR (Natriuretische-Peptid-Rezeptoren) liegen [50].

1.2 Pädiatrische Herztransplantation

Pädiatrische Herztransplantationen werden seit 1982 durchgeführt, der ISHLT (International Society for Heart and Lung Transplantation) werden jährlich ca. 400 pädiatrische Herztransplantation gemeldet, das entspricht etwa einem Achtel der insgesamt gemeldeten Herztransplantationen. Von den pädiatrischen Herztransplantationen werden ca. 25% im ersten Lebensjahr durchgeführt, die restlichen 75% teilen sich gleich zwischen der Gruppe der Ein- bis Zehnjährigen und der Gruppe der über Zehnjährigen auf [42].

1.2.1 Transplantation

Die Transplantation eines soliden Organs ist die ultima ratio der Therapieoptionen für Erkrankungen mit terminalem Versagen des betroffenen Organs [69].

Die nötige Abstimmung zwischen Spender und Empfänger variiert stark, bei der Nierentransplantation ist eine genauere HLA Typisierung möglich und auch nötig, bei der Herztransplantation wird nur der ABO Blutgruppenvergleich durchgeführt, und das Gewicht von Spender und Empfänger berücksichtigt. Eine bessere HLA-Kompatibilität könnte zwar die Chancen für das Transplantat-Überleben verbessern, aber die Limitierung der kalten Ischämie Zeit (ca. vier Stunden) und die Spenderknappheit limitieren hier die Möglichkeiten einer weiteren Optimierung der HLA-Kompatibilität [69] [9].

1.2.2 Herztransplantation

Die Indikation für eine pädiatrische Herztransplantation wird gestellt, wenn die Lebenserwartung ohne Transplantation unter ein bis zwei Jahre liegt oder wenn die Lebensqualität durch eine fortgeschrittene Herzerkrankung unakzeptabel schlecht ist. Bevor eine Herztransplantation empfohlen werden kann, müssen ein Multiorganversagen und eine eventuell korrigierbare Ursache für die Herzerkrankung ausgeschlossen werden. Die Hauptindikationen für eine pädiatrische Herztransplantation sind fortgeschrittene Kardiomyopathie und angeborene Herzfehler [10], wobei im ersten Lebensjahr 63% der Herztransplantationen auf congenitale Herzfehler zurückzuführen sind und nur ca. 30% auf einer Kardiomyopathie beruhen; nach dem ersten Lebensjahr liegt eine Kardiomyopathie in 57% der Fälle der Transplantation

zur Grunde und nur ca. 31% sind auf angeborene Herzfehler zurückzuführen. Bei Erwachsenen macht die Kardiomyopathie ca. 45% der Fälle aus und nur ca. 2% sind auf angeborene Herzfehler zurückzuführen, hier fällt eine weitere wichtige Gruppe ins Gewicht, die der KHK (Koronaren Herz Erkrankungen) die ca. 45% der gemeldeten Transplantationen ausmacht. Betrachtet man alle Altersgruppen ist die Kardiomyopathie mit ca. 58% in Europa die häufigste Ursache für eine Herztransplantation [9] [42]. Zunehmend wird eine Anthrazykline assoziierte Kardiomyopathie bei den Überlebenden einer malignen Erkrankung im Kindesalter als Grund für eine nötig gewordene Herztransplantation beobachtet [10]. Die Überlebensraten nach pädiatrischer Herztransplantation sind um einiges besser als die bei Erwachsenen und werden ständig weiter verbessert. Die Überlebensraten von Kindern, die 1999 eine Herztransplantation erhalten haben, liegen im ersten Jahr bei 78%, nach fünf Jahren bei 68% und nach zehn Jahren immer noch bei 60% [9].

Das chirurgische Vorgehen

Allokation beschreibt die Zuordnung vom Spenderorgan zu einem Empfänger; sie ist von vielen Kriterien abhängig. Die medizinische Dringlichkeit, die Wartezeit und die für den Transport benötigte kalte Ischämiezeit sind nach der Anpassung der ABO Blutgruppen und des Gewichts (der Unterschied von Spender zu Empfänger sollte nicht mehr als 20% betragen) die wichtigsten Kriterien für die Allokation [9] [14]. Eine längere Ischämiezeit korreliert mit einer höheren Mortalität in den ersten 30 Tagen nach der Transplantation, wobei das Risiko umso höher ist, je länger die chirurgische Implantationszeit dauert [8].

Die Transplantation wird unter extrakorporaler Zirkulation mit einer getrennten Kanülierung der oberen und unteren Hohlvene und einer Hypothermie von 26-28°C durchgeführt. Das kranke Herz wird auf Vorhofebene durchtrennt, wobei der Sinusknoten meist in Situ belassen wird, die Aorta ascendens und die Pulmonalarterie werden distal der Semilunar-klappebene durchtrennt und das Herz kann entnommen werden. Bei der Transplantation des Spenderherz werden zuerst die Vorhöfe des Spenders mit denen des Empfängers anastomosiert, dabei entsteht ein größerer Vorhof, meistens mit dem Sinusknoten des Empfängers und dem des Spenders. Anschließend werden die Pulmonalarterie und die Aorta End-zu-End anastomosiert, zuletzt werden die Hohl- und die Pulmonalvenen direkt anastomosiert [14, 9, 40].

Das Handhaben nach der Transplantation

Die meisten pädiatrischen Patienten können bereits innerhalb der ersten 48 Stunden nach der OP extubiert werden und innerhalb von 3-4 Tagen schon aufstehen [9]. In den ersten vier Wochen nach der Transplantation besteht das höchste Abstoßungsrisiko durch zelluläre Rejektion. In den folgenden 11 Monaten gehören Infektionserkrankungen vor allem CMV (Zytomegalievirus) zu den häufigsten Todesursachen.

Langfristig ist die Transplantatvaskulopathie eine der gefürchteten Komplikationen, ca. 50% der Patienten weisen nach fünf Jahren angiographische Veränderungen auf [14]. Bei pädiatrischen Herztransplantationen ist die Transplantatvaskulopathie seltener; 75% der Patienten zeigen acht Jahre nach der Transplantation keine Anzeichen für eine Transplantatvaskulopathie. Sobald jedoch eine Transplantatvaskulopathie aufgetreten ist, überleben nur 50% der Transplan-

tate die nächsten 2,8 Jahre [42].

Mortalität

Die Daten der ISHLT (International Society for Heart and Lung Transplantation) für das Jahr 2008 zeigen eine Abhängigkeit der Überlebenszeit nach der Transplantation von dem Alter des Patienten bei der Transplantation. Bei Patienten, die nach dem zehnten Lebensjahr transplantiert wurden, liegt die Halbwertszeit des Transplantats (der Zeitpunkt an dem noch 50% der Transplantierten leben) bei 11,3 Jahre; bei transplantierten Säuglinge (im ersten Lebensjahr transplantierte Patienten) liegt dieser Wert bei 15,8 Jahre. Das höchste Mortalitätsrisiko besteht in den ersten sechs Monaten nach der Transplantation [10] [42].

Die häufigsten Todesursachen nach pädiatrischer Herztransplantation:

- In den ersten 30 Tagen: Akutes Allograft Versagen
- Ein bis fünf Jahre Posttransplantation: Akute zelluläre Abstoßung und Infektionen
- Über fünf Jahre: chronische Abstoßungsreaktion [10]

In den ersten drei Jahren nach einer pädiatrischen Herztransplantation sind ca. 20% der Todesfälle auf eine akute Abstoßungsreaktion zurückzuführen; die Häufigkeit nimmt nach dem dritten Jahr langsam ab. Weitere 20% der Todesfälle sind unabhängig von der seit der Transplantation vergangenen Zeit auf ein Allograftversagen zurück zu führen. Infektionen sind vor allem im ersten Jahr nach einer Transplantation eine häufige Todesursache, später kommt dann die Transplantatvaskulopathie als wichtige Todesursache hinzu, deren Häufigkeit mit der Zeit nach der Transplantation immer weiter zunimmt [42].

1.2.3 Immunologie und Immunsuppression

Immunologie

Gewebe mit sehr ähnlichen Antigenen werden als histokompatibel bezeichnet, je histokompatibler desto unwahrscheinlicher wird eine Immunreaktion. Meistens wird allerdings histoinkompatibles Gewebe transplantiert und es kommt zur Ausbildung einer Immunreaktion. Diese Immunreaktion ist am stärksten in den ersten Wochen und Monaten nach der Transplantation und bleibt solange bestehen, wie das transplantierte Organ im Körper ist. Eine Reihe von Proteinen, welche an Zelloberflächen exprimiert werden sind für die Histokompatibilität (Gewebsverträglichkeit) von entscheidender Bedeutung. Diese Proteine werden von einer Reihe von Genen kodiert welche als (MHC) Major Histocompatibility Complex zusammengefasst werden. Die MHC Gene liegen sehr dicht beieinander, deswegen können bei deren Vererbung die Mendelschen Gesetze zugrunde gelegt werden. Die Wahrscheinlichkeit für die Kompatibilität bei zwei Geschwistern beträgt 25%, bei der Transplantation von einem Elternteil zum Kind wird immer ein Haplotyp passen, der Andere nicht. Diese Gene kodieren Proteine, welche die Zugehörigkeit der Zellen zum Körper ausweisen. Für die klinische Handhabung hat

sich die Bestimmung dieser Proteine auf der Oberfläche der Leukozyten etabliert, somit hat sich die Bezeichnung HLA (Human Leukocyte Antigen) für die Einteilung der Proteine in Gruppen und den Vergleich für die Histokompatibilität durchgesetzt [69] [10].

Abstoßungsreaktion

Die Abstoßung eines Transplantates durch den Wirt wird auch als Rejektion bezeichnet und wird nach dem Zeitpunkt des Auftretens in verschiedene Formen eingeteilt:

- Hyperakute Abstoßung
- Akute Abstoßung
- Chronische Abstoßung
[74] [69]

Trotz erheblicher Fortschritte in der immunsuppressiven Therapie bleibt die Abstoßungsreaktion die häufigste Todesursache in den ersten drei Jahren nach Transplantation [10].

Hyperakute Abstoßungsreaktion: Eine frühere Sensibilisierung des Empfängers durch Spender-ähnliche Antigene führt dazu, dass präformierte Antikörper innerhalb von Minuten bis Stunden das Transplantat durch die Aktivierung der Komplementkaskade zerstören können [69].

Akute Abstoßungsreaktion: Es werden aber auch ohne früheren Kontakt mit Spender-ähnlichen Antigenen regelmäßig Antikörper gegen das Transplantat nachgewiesen, die aber nicht ausreichen, um eine Abstoßungsreaktion einzuleiten. Im ersten Schritt dieser T-Zell-vermittelten Reaktion müssen die Immunzellen zum Transplantat gelockt werden; dies geschieht mit Hilfe von Chemokine (über 50 verschiedene Proteine). Für die Einleitung der Immunantwort sind zwei Signale nötig. Das erste Signal ist das Binden von Antigen an den T-Zell-Rezeptor; aber für die Aktivierung reicht dieser nicht aus, vielmehr wird eine weitere Costimulation (CoS) benötigt. Fehlt die CoS kommt es zur Anergie (fehlende Antwort). Ist die CoS vorhanden, kann sich eine nicht-destruktive Immunantwort mit resultierender Allografttoleranz oder aber eine destruktive Immunantwort mit anschließender Allograftabstoßung entwickeln [69]. Leichte und moderate Abstoßungsreaktionen im Kindesalter sind sehr häufig asymptomatisch, die Herzfunktion ist meist nicht eingeschränkt, oft sind nur subklinische diastolische Funktionseinschränkungen zu beobachten. Die allermeisten dieser Abstoßungsreaktionen werden erst in der Kontrollbiopsie bei asymptomatischen Patienten diagnostiziert. Schwere Abstoßungsreaktionen werden meist mit Müdigkeit, vermindertes Hungergefühl, Übelkeit, Bauchschmerzen, Gewichtsabnahme, Unruhe oder leicht erhöhte Temperatur symptomatisch. Dann sind meistens auch Tachykardie, Arrhythmie und Fieber zu beobachten [10].

Chronische Abstoßungsreaktion: Es handelt sich um das histologische Bild einer Transplantat-Vaskulopathie, welche schon nach wenigen Wochen auftreten kann. Das histologische Bild dieser Vaskulopathie ist etwas anders als das histologische Bild einer koronaren Herzerkrankung; die Lumeneinengung ist durch Muskelproliferation bedingt und betrifft die Gefäße in deren ganzer Länge. Die Transplantatvaskulopathie bei Kindern nach Transplantation eines soliden Organs ist der wichtigste das Langzeitüberleben einschränkende Faktor [69] [10]. Die immunologische Antwort bzw. immunologische Risikofaktoren von Spender und Empfänger sind bei der chronischen Abstoßungsreaktion von untergeordneter Rolle. Das Alter sowie eine evtl. bestehende Hypertonie des Spenders sind Risikofaktoren für die spätere Transplantatvaskulopathie. Auch die Ischämiezeit des Organs und die Reperfusionsschäden spielen hier eine entscheidende Rolle. Beim Empfänger können Hypertonie, Hyperlipidämie, Übergewicht und Diabetes mellitus die Entstehung einer Transplantat-Vaskulopathie begünstigen; auch die ethnische Zugehörigkeit und das Geschlecht können hier Einfluss nehmen [69]. In ähnlicher Weise sind bei der chronischen Abstoßungsreaktion viele der Patienten asymptomatisch, durch die Denervierung des Herzens sind Thoraxschmerzen als Symptom sehr selten. Herzrhythmusstörungen, Präsynkope oder auch Synkope, Ödeme, Belastungsintoleranz und selten auch Thoraxschmerzen können Symptome einer chronischen Abstoßung sein [10] .

Risikofaktoren für eine Abstoßungsreaktion im Kindesalter sind:

- Höheres Alter bei Transplantation
- Nachweis vom Zytomegalievirus
- Unterschiedliches Geschlecht von Spender und Empfänger
- Vorhergehende Abstoßungsreaktion.

Eine hämodynamisch relevante Abstoßungsreaktion stellt mit einer ca. 50% Mortalität im ersten Jahr nach dieser Reaktion ein besonders hohes Risiko dar [10].

Die Einteilung des Schweregrades der Abstoßung erfolgt in der Histologie einer Endomyokard Biopsie nach Kriterien der ISHLT. Trotz vieler Versuche eine alternative, weniger invasive Methode zur Diagnose einer Abstoßungsreaktion zu etablieren, ist und bleibt die endomyokardiale Biopsie der Goldstandard [15].

Immunsuppression

Die erfolgreiche T-Zell-Suppression, die durch Cyclosporin möglich wurde, steigerte die Erfolgsrate von Transplantationen erheblich. Bei der Wahl der Immunsuppressiva bei Kindern nach Transplantation müssen nicht nur deren erwünschte immunsuppressive Wirkung und deren Nebenwirkungen beachtet werden. Immunologisch bedingte Nebenwirkungen wie Infektionen und das Risiko maligner Neubildung sowie nicht immunologisch bedingte Nebenwir-

kungen wie Nieren- und Nervenschädigung limitieren häufig die Therapie mit einigen Immunsuppressiva. Bei Kindern muss vielmehr auch der Einfluss der verschiedenen Medikamente auf die weitere körperliche und geistige Entwicklung des Kindes beachtet werden.

1.3 BNP und Herztransplantation

1.3.1 Normwerte nach Herztransplantation

Mehrere Studien zeigen erhöhte BNP-Spiegel bei Patienten nach einer Herztransplantation. Um dieses Phänomen zu erklären, werden häufige Begleiterkrankungen wie systolische und diastolische Graft-Dysfunktion, linksventrikuläre Hypertrophie, Niereninsuffizienz und Abstoßungsreaktionen in Betracht gezogen. Daneben werden auch die Cyclosporin Therapie und die durch Denervierung begründete Tachykardie als mögliche Ursachen erwähnt [3] [65]. Um zu differenzieren, ob die BNP Erhöhung grundsätzlich an der Operation am Herzen oder wirklich an der einzigartigen Situation einer Herztransplantation liegt, verglichen Geny et al. an Patienten nach koronarer Bypass Operation mit herztransplantierten Patienten. Sie bestätigten den Zusammenhang zwischen der BNP Erhöhung spezifisch mit der Herztransplantation, welche nicht jedoch im gleichem Maß mit anderen Herzoperationen assoziiert war [30].

Der BNP Mittelwert nach Transplantation ist in mehreren Studien mit 180-264 pg/ml signifikant höher als in der gesunden Kontrollgruppe 16-38 pg/ml bzw. bei Patienten welche eine andere Herzoperation erhalten haben [66, 35, 4, 43, 36, 30]. Auch zum zeitlichen Verlauf von BNP nach einer Transplantation gibt es einige Studien. Hervas et al. zum Beispiel zeigten nach zunächst hohen BNP-Konzentrationen eine stetige Abnahme der BNP-Werten im Serum nach der Herztransplantation mit Stabilisierung der Werte auf erhöhtem Niveau nach vier bis fünf Monate [36]. Ein solcher stetiger Abfall mit unterschiedlichen Ausgangswerten und unterschiedlich beschriebener Dynamik wurde auch von Kirchoff et al. [41], Lan et al. [48] sowie anderen Arbeitsgruppen [63, 4, 62, 49] beschrieben. Die Relation ANP/BNP steigt nach der Transplantation kontinuierlich an; dies spricht für einen nicht mit der Pumpfunktion assoziierten Einfluss auf Bildung von natriuretischen Peptiden [41]. Oft wurden auch erhöhte BNP-Werte bei klinisch unauffälligen Patienten nach Herztransplantation gesehen [49] [35]. Lindblade et al. schlagen vor, den BNP Cutoff-Wert bei herztransplantierten Patienten zu individualisieren und während einer klinisch stabilen Phase festzulegen [49].

1.3.2 Beeinflussung des BNP-Spiegels

Perioperative Einflüsse

In der perioperativen Phase ist das kardiale Allograft mehreren schädigenden Faktoren ausgesetzt. Akut erleidet das Herz eine Ischämie, alloimmune Interaktionen, Denervation und muss sich neuen Zirkulationsverhältnissen anpassen. In der chronischen Phase spielen auch Kreislaufeinflüsse des Empfängers eine wichtige Rolle. Diese Stressfaktoren sind bekannte Faktoren, welche die BNP Produktion beeinflussen [57]. allerdings konnten O'Neill et al. bereits eine Woche nach der Transplantation keine Korrelation zwischen der Ischämiezeit und der BNP-Konzentration mehr zeigen [63].

Veränderte Kardiovaskuläre Physiologie

Mehrere Studien zeigen Korrelationen zwischen BNP und kardiovaskulären Funktionsparametern. Mehra et al. beobachteten eine signifikante Korrelation zwischen dem BNP-Wert mit Werten ober- bzw. unterhalb einem Cutoff-Wert von 250 pg/ml und der LVEF von $60 \pm 6\%$ bzw. $48 \pm 18\%$ [58]. Hervas et al. beschreiben signifikante Unterschiede der BNP-Werte bei Patienten mit guter LVEF ($> 55\%$), mild bis moderat eingeschränkter LVEF (35-55%) und deutlich eingeschränkter LVEF ($< 35\%$) [35]. Aranú-Vives et al. beobachteten signifikante Korrelationen von BNP-Werten mit erhöhten Drücken im kleinen Kreislauf [4]. Park et al. beobachteten einen signifikanten Unterschied der PCWP Werten; bei Patienten mit niedrigerem BNP < 150 pg/ml lagen die Werte im Mittel bei 9 ± 4 mmHg, bei Patienten mit höheren BNP-Werten lagen die Werte im Mittel bei 13 ± 5 [66]. Patienten mit Koronarer Herzerkrankung (definiert über eine Einengung des Koronargefäßlumens $\geq 40\%$) hatten signifikant höhere BNP-Werte im Mittel 537 ± 198 pg/ml, gegen 226 ± 39 pg/ml [58]. Vor allem in der frühen Phase nach der Transplantation korreliert BNP mit diastolischer Dysfunktion und hohen Drücken im venösem System [63]. Rechtsventrikuläre Insuffizienz, diastolische Dysfunktion und verminderte Compliance der Ventrikel aufgrund von kardialer Denervation oder Cyclosporin Therapie können zum BNP Anstieg beitragen [4]. Mehra et al. zeigten, dass durch die unterbrochene Kommunikation zwischen Ventrikel und Gefäßsystem, charakterisiert mittels Ea/Ees (Ea – effective arterial elastance; Ees – End systolic elastance), die mechanische Effizienz suboptimal ist. Eine Entkopplung von Ventrikel und Gefäßsystem ist mit schlechter zirkulatorischen Effizienz assoziiert und bedeutet ventrikulären Stress; dieser korreliert mit einem BNP-Anstieg [57].

Eigenschaften des Empfängers

Viele Studien untersuchten den Zusammenhang zwischen BNP und unabhängigen Eigenschaften der Empfänger, und kamen auf sehr unterschiedliche Ergebnisse.

Laut Mehra et al. korrelieren Alter, Geschlecht und Zeit seit der Transplantation bei Erwachsenen nicht mit den BNP-Werten [58]. Andere Studien zeigten auch keine Korrelation mit dem Alter, dem Geschlecht oder der ethnischen Zugehörigkeit, jedoch eine negative Korrelation von BNP mit der Zeit nach der Transplantation bei Erwachsenen [66, 4]. Im Gegensatz dazu zeigten Klingenberg et al., dass höhere BNP-Werte bei erwachsenen weiblichen Herztransplantation-Empfängern vorliegen und vermuteten eine Assoziation mit dem Abbau von BNP [43]. Auch Wu et al. beschreiben bei Erwachsenen einen größeren Frauenanteil bei der Patientengruppe mit höheren BNP-Werten [83]. Das Geschlecht des Spenders bzw. Geschlechtsunterschied zwischen Spender und Empfänger scheinen dagegen keinen Einfluss auf den BNP-Spiegel zu haben [43]. NT-proBNP korrelierte bei Erwachsenen mit der Zeit seit der Transplantation und nicht mit dem Alter des Patienten [4, 43].

Nierenfunktion

Die Kreatininkonzentration nimmt mit der Zeit nach der Transplantation zu. In der chronischen Phase nach Herztransplantation zeigt sich eine verminderte renale Funktion. NT-proBNP korreliert mit dem Kreatininspiegel und der Kreatinin-Clearance. Es wird fast ausschließlich über die Niere ausgeschieden, und ist daher in der oft durch die Medikation nie-

rengeschädigte Population der Herztransplantierten als Marker ungeeignet. Die BNP Konzentration korreliert nicht direkt mit Kreatinin [3, 43, 4, 58].

Immunsuppressiva

Die BNP Konzentration korreliert nicht direkt mit dem eingesetzten Calcineurin-Inhibitor. Bei niedrigen BNP-Werten zeigt sich eine höhere Wahrscheinlichkeit zum erfolgreichen Absetzen von Corticosteroiden [58, 4]. Niedrigere BNP-Werte bei Patienten, die erfolgreich von Steroiden entwöhnt werden können, reflektieren eine bessere Anpassung des kardialen Allograft. Dies bedeutet verminderten Dehnungsstress für die Ventrikelwand und somit weniger BNP Expression und eine bessere kardiale Funktion [56, 65].

Hämoglobin

Eine Anämie kann über erhöhtem kardialen Stress zur BNP-Erhöhung führen [43, 83].

Immunsystem

Shaw et al. zeigten eine Beeinflussung der Menge und Funktionalität von Immunzellen durch die Exposition mit BNP in vitro. Bei einer Exposition von $\leq 24h$ konnte ein linearer Dosis abhängiger Zusammenhang zwischen BNP und der Zahl von Monozyten in der Kultur nachgewiesen werden, auch B-Zellen waren signifikant erniedrigt [78].

1.3.3 Die Rolle von BNP in der Abstoßungsdiagnostik

Zur Rolle von BNP in der Abstoßungsdiagnostik gibt es mehrere widersprüchliche Ergebnisse der Forschung.

Das Verhalten von BNP bei einer Abstoßungsreaktion

In einigen Studien wurde ein klarer Zusammenhang zwischen Abstoßungsreaktionen und einem BNP-Anstieg beobachtet. Masters et al. beobachteten regelmäßig bei einer behandlungsbedürftigen Abstoßungsreaktion einen Anstieg des BNPs auf $> 400pg/ml$, bei den Patienten ohne Abstoßungsreaktion beobachteten sie keinen Wert $> 400pg/ml$. allerdings war der BNP-Wert der Patienten mit einer Abstoßungsreaktion in dieser Studie häufig bereits vor der Abstoßungsperiode $> 400pg/ml$ [53]. Lan et al. beobachteten immer eine Abstoßungsreaktion bei BNP-Werten $> 400pg/ml$ [48]. Lindblade et al zeigten bei Empfängern einer pädiatrischen Herztransplantation mit unauffälliger Biopsie signifikant niedrigere BNP-Werte als bei Empfängern mit pathologischen Veränderungen in der Biopsie [49]. Hervas et al. [35] und Wu et al. [83] zeigten sogar eine Korrelation zwischen dem Abstoßungsgrad nach ISHLT und den BNP-Werten.

Aranu-Vives et al. zeigten nur einen indirekten Zusammenhang von BNP und Abstoßungsreaktionen, indem sie beobachteten, dass bei dem klinischem Verdacht auf Abstoßung eine intensivisierte immunsuppressive Therapie die BNP Konzentration senken kann [4]. Ähnliche

Beobachtungen wurde ebenfalls von Lindblade et al. gemacht [49]. Andere Studien wiederum konnten keine Korrelation zwischen Abstoßungsreaktionen und dem BNP Spiegel zeigen. O'Neill et al. konnten sogar überhaupt keine Korrelation von BNP und dem histologischen Abstoßungsgrad bei Patienten in den ersten zwei Monaten nach einer Herztransplantation nachweisen [63].

Etablierung eines Cutoff-Werts

Einige Studien versuchten einen Cutoff-Wert für BNP im Serum in der Gruppe der Herztransplantierten zu definieren. Arnau-Vivies et al. versuchten einen Cutoff-Wert festzulegen, um die Patienten mit Abstoßungsreaktionen von den Patienten ohne Abstoßung zu unterscheiden. Trotz eines signifikant höheren BNP Mittelwert in der Gruppe mit Rejektion war die Überlappung mit der Gruppe ohne Rejektion jedoch so groß, dass auf die Festlegung eines Cutoff-Werts verzichtet wurde [4]. Park et al. setzten dagegen einen Cutoff-Wert bei dem Median aller Untersuchten mit und ohne Abstoßung (150 pg/ml) fest, in der Gruppe "Niedriges BNP" ergab sich ein Mittelwert der fast dem Wert der Normalbevölkerung entspricht (76 ± 38 pg/ml), in der Gruppe "Hohes BNP" ergab sich ein Mittelwert, der dem einer Herzinsuffizienz-Gruppe entspricht (433 ± 293 pg/ml) [66]. In der Gruppe mit höheren BNP-Werten wurde auch höherer Druck im rechten Vorhof, in der Pulmonalarterie (PAP) und in den pulmonalen Kapillaren (PCWP) nachgewiesen [65]. Klingenberg et al setzten den Cutoff bei 96,8 pg/ml (entspricht ebenfalls dem Median) und fanden, dass in der Gruppe mit höherem BNP die Patienten häufiger weiblich, länger transplantiert, mit schlechter Nierenfunktion und mit bestehender Anämie waren. Es fanden sich keine Unterschiede in der Immunsuppression [43].

Fragestellung der vorliegenden Arbeit

Die bislang erwähnten Studien beschäftigen sich überwiegend oder ausschließlich mit herztransplantierten Erwachsenen und bei herztransplantierten Kindern fast ausschließlich mit der Diagnostik der insgesamt seltenen Abstoßung. Ziel der vorliegenden Studie war es, entsprechende Untersuchungen an Patienten nach pädiatrischer Herztransplantation durchzuführen, und eine weitere Risikoklassifizierung in diesem Patientenkollektiv zu versuchen.

2 Material und Methoden

2.1 Studiendesign

In einer prospektiven Studie wurden insgesamt 83 Patienten nach pädiatrischer Herztransplantation über 17 Monate beobachtet. Gleichzeitig wurden bei 87 Kindern ohne Vorerkrankungen bei Vorsorgeuntersuchungen BNP und NT-ProBNP bestimmt. Ziel war zunächst einen Referenzbereich für BNP und NT-ProBNP gesunder und sofern möglich auch herztransplantierten Kinder festzulegen. Die Referenzbereiche für BNP und NT-ProBNP sollten verglichen, die Sensitivität und Spezifität von BNP und NT-ProBNP und der prädiktive Wert eines erhöhten BNP Spiegel nach einer pädiatrischen orthotopen Herztransplantation ermittelt werden.

2.1.1 Probanden

Es wurden zwei Kollektive beobachtet, ein Kollektiv von gesunden Kindern (N=87) und ein Kollektiv von herztransplantierten Kindern (n=83).

Kinder ohne Vorerkrankungen

Unter den gesunden Kindern und Jugendlichen wurden 51 männliche und 36 weibliche zwischen dem ersten und dem neunzehnten Lebensjahr untersucht. Diese Kinder stellten sich zu Routinekontrollen bei ihrem niedergelassenen Kinderarzt vor, klagten über keinerlei Symptome und hatten keine ernsthafte Erkrankungen in der Vorgeschichte. Durch eine einfache Venenpunktion wurde Blut in ein mit EDTA (Ethylendiamintetraessigsäure)versetztes Röhrchen gewonnen, das Blut wurde anschließend sofort zentrifugiert und das Plasma in der Abteilung für Klinische Chemie am Universitätsklinikum der Justus-Liebig-Universität Gießen bis zur BNP bzw. NT-ProBNP-Bestimmung für einige Wochen bis Monate bei -20°C eingefroren. BNP ist für 24 Stunden, NT-ProBNP für 72 Stunden stabil bei Raumtemperatur; beide Marker bleiben bei Einfrieren und Auftauen stabil [18]. Bei 6 der insgesamt 87 Proben war nicht genug Material für die Bestimmung von NT-ProBNP vorhanden; bei diesen wurde daher nur BNP bestimmt.

Herztransplantierte Kinder

Es wurden insgesamt 54 männliche und 29 weibliche Patienten beobachtet, zum Zeitpunkt des Studienbeginns waren diese zwischen ein und 30 Jahre alt, im Mittel ca. acht Jahre. Das Alter der Patienten zu Studienbeginn zeigt eine annähernde Normalverteilung (Arithmetischer Mittelwert 8,3 Jahre ~ Median 8 Jahre). Zum Zeitpunkt der Transplantation waren die Patienten zwischen wenige Tage bis 15 Jahre alt, die meisten wurden vor dem zweiten Lebensjahr transplantiert. Die Altersverteilung zum Transplantationszeitpunkt zeigt eine linksgipflige Verteilung (Arithmetisches Mittelwert (2,37)>Median (1,0)>Modus (0)). Bei jeder Vorstellung eines Kindes aus diesem Kollektiv in der kinder-kardiologischen Abteilung in Gießen wurde durch eine einfache Venenpunktion Blut in ein mit EDTA versetztem Röhrchen gewonnen, das Blut wurde anschließend sofort im Zentrallabor am Universitätsklinikum der Justus-Liebig-Universität Gießen zentrifugiert, Plasma bis wenige Monate bei -20°C eingefroren, BNP und

NT-ProBNP sowie weitere Analyte wurden dort bestimmt. Dieses aus insgesamt 83 Patienten bestehendes Kollektiv wurde nach drei Gesichtspunkten erneut unterteilt.

Einteilung nach BNP

Die Patienten wurden nach dem ersten gemessenen BNP-Wert in zwei Gruppen eingeteilt, wobei der BNP-Wert von 100 pg/ml als cutoff Wert diente. Untersucht wurde die Häufigkeit mit der Ereignisse in jeder dieser Gruppe auftraten. Ereignisse wurden wie folgt definiert: Neu aufgetretene akut oder chronisch verlaufende Erkrankungen welche medizinische Betreuung bedurften, bzw. Verschlechterung einer bereits bestehenden Erkrankung die eine Überdenkung des Therapieplans bedarf.

Einteilung nach vergangener Zeit

Die Unterteilung nach der Zeit, die seit der Transplantation vergangen ist, erfolgte in drei Gruppen: in die erste Gruppe wurden alle Patienten eingeteilt die in den letzten fünf Jahren vor Studienbeginn transplantiert wurden ($n = 39$), die zweite Gruppe bestand aus Patienten die vor fünf bis zehn Jahre transplantiert wurden ($n = 34$) und in der letzten Gruppe befanden sich diejenige Patienten die über zehn Jahre vor Studienbeginn transplantiert wurden ($n = 11$) (Abb. 2).

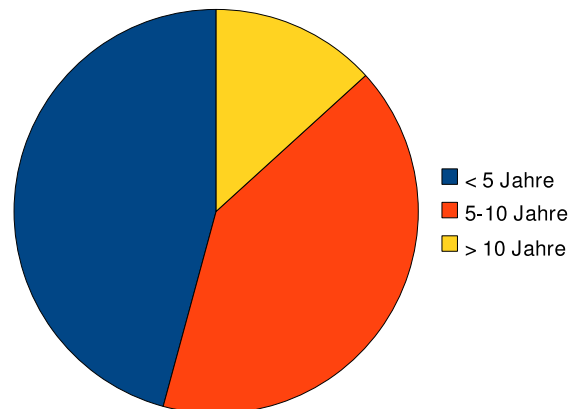


Abbildung 2: Unterteilung nach der Zeit seit der Transplantation

Es wurde die Häufigkeit von Ereignissen sowie die Höhe der BNP und NT-ProBNP-Werte untersucht und verglichen.

Einteilung nach Ereignissen

Zuletzt wurde nach Abschluss der Studie das Kollektiv retrospektiv in drei Gruppen unterteilt, nach der Anzahl der Ereignisse die sie in dieser Zeit durchlebten und die BNP und NT-ProBNP-Werte dieser Gruppen wurden verglichen.

Ereignisse wurden wie folgt definiert: Neu aufgetretene akut oder chronisch verlaufende Erkrankung, welche medizinischer Betreuung bedarf, bzw. Verschlechterung einer vorhandenen Erkrankung, die eine Überdenkung des Therapieplans bedarf (Abb. 3).

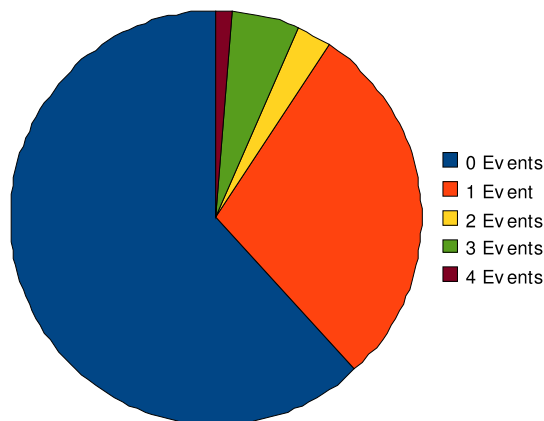


Abbildung 3: Unterteilung nach Events

2.1.2 Einschluss- und Ausschlusskriterien

Für die beiden unterschiedlichen Kollektive wurden jeweils Ein- und Ausschlusskriterien definiert. Zur Verfügung standen Blutproben von Kindern denen aus medizinischen Gründen ab dem 01.10.2004 Blut abgenommen wurde.

2.1.2.1 Referenzgruppe

Einschlusskriterien

Männliche und Weibliche Patienten zwischen 0 und 18 Jahre, Routine Blutentnahme mit Gewährleistung des Zentrifugieren und Einfrieren der Probe innerhalb von einer Stunde, ausreichendes Probenvolumen für die Analyse

Ausschlusskriterien

Chronische Vorerkrankungen, aktuell vorliegende Erkrankung, unvollständige Daten zu Alter oder Geschlecht

2.1.2.2 Herztransplantierte Patienten

Einschlusskriterien

Patienten nach pädiatrischer Herztransplantation, die am 01.10.2004 seit mindestens sechs Monate herztransplantiert waren und regelmäßige Vorstellungen in der Abteilung für Kinderkardiologie der Kinderklinik der Justus-Liebig-Universität in Gießen eingehalten haben.

Ausschlusskriterien

Patienten, bei denen am 01.10.2004 weniger als sechs Monate nach der Transplantation vergangen sind, oder Patienten, bei denen die regelmäßigen Vorstellungen nicht in Gießen erfolgten, und die Datenerfassung unvollständig war.

2.2 Datenerfassung

Im Referenzkollektiv wurde nur eine Probe je Patient berücksichtigt, aus der BNP und NT-ProBNP bestimmt wurden. In der Gruppe der herztransplantierten Patienten wurden die Daten bei mehreren Vorstellungsterminen je Patient in der kinderkardiologischen Abteilung der Kinderklinik der Justus-Liebig-Universität in Gießen erhoben. Die Häufigkeit dieser Vorstellungen hing vom klinischen Zustand und der seit der Transplantation vergangenen Zeit ab. Zu jedem planmäßigem Vorstellungstermin wurden folgende Untersuchungen durchgeführt: Erhebung der aktuellen Anamnese, besonders wurde auf Zeichen der Herzinsuffizienz bzw. auf Nebenwirkungen der Medikation geachtet; es erfolgte eine gründliche klinische Untersuchung, Abnahme von Blut zur Bestimmung sogenannter Routinelaborparametern (wie z.B. Nierenfunktionsparameter) und die Bestimmung von BNP und NT-ProBNP, Ableitung eines 12 Kanal Elektrokardiogramm (EKG), echokardiographische Untersuchung. Als Ergebnis dieser Untersuchungen erfolgte evtl. eine Anpassung der Dauermedikation an das Wachstum oder klinischen Zustand des Kindes. In größeren Abständen fanden weitere Untersuchungen statt: Bestimmung der Kreatinin Clearance, Langzeit-EKG und Langzeit-Blutdruck-Messungen, Herzkatheter-Untersuchung mit der Entnahme und histologische Untersuchung von Myokardbiopsien. Weiterhin wurden Daten einbezogen die während eventuell notwendiger stationärer Aufenthalte erhoben wurden.

Insgesamt wurden in den 17 Monaten der Studie 461 BNP und 353 NT-ProBNP-Werte bestimmt, pro Patient im Durchschnitt 5,9 BNP und 4,6 NT-ProBNP-Werte.

2.2.1 Diagnostik

Bestimmung von BNP

Die Messung der BNP-Werte wurde mit dem ADVIA Centaur der Firma Bayer durchgeführt. Der ADVIA Centaur BNP-Test ist ein vollautomatischer Zweistufen-Sandwich-Immunoassay (Elektro-Chemi-Lumineszenz-Immuno-Assay), der unter Verwendung zweier monoklonaler Antikörper und Messung direkter Chemilumineszenz durchgeführt wird. Der erste Antikörper ist ein mit Acridinium Ester markierter monoklonaler Maus-Antikörper, welcher spezifisch die Ringstruktur des BNPs bindet. Der zweite Antikörper ist ebenfalls ein monoklonaler Maus-Antikörper welcher spezifisch das C-terminale Ende von BNP bindet und an paramagnetischen Partikeln gebunden ist, welche die solide Phase darstellen. Die Probe wird 5 Minuten bei 37°C mit dem ersten Antikörper inkubiert und anschließend weitere 2,5 Minuten bei 37°C mit dem zweiten Antikörper. Es entwickelt sich ein Immunkomplex von BNP in der Probe mit den beiden Antikörpern. Nach der Inkubationsphase wird das magnetische Feld aktiviert und die nicht gebundenen Antikörper sowie der Rest der Probe ausgewaschen. Die an der festen Phase gebundenen Chemilumineszenz wird anschließend in einem Luminometer gemessen. Es besteht eine direkte Korrelation zwischen der Menge des BNPs in der Probe und den relativen Licht Einheiten (RLUs), die vom System gemessen werden. Messbereich von $< 2,0 - 5000$ pg/ml. Bei den gesunden Kindern wurden aufgrund der insgesamt deutlich niedrigeren Werten und damit nicht genau bestimmbare Werte, die Nachkommastellen nicht berücksichtigt, bei den transplantierten wurden die Werte mit einer Genauigkeit von zwei Stellen nach dem Komma berücksichtigt.

Bestimmung von NT-ProBNP

Die Messung der NT-ProBNP-Werte wurde mit dem Elecsys der Firma Roche Diagnostics durchgeführt. Der Elecsys NT-ProBNP-Test ist ein vollautomatischer Sandwich-Immunoassay (Elektro-Chemi-Lumineszenz-Assay). Biotin-markierte und Ruthenium-markierte polyklonale Schaf-Antikörper werden zu der Patientenprobe hinzugefügt und 9 Minuten inkubiert, im zweiten Schritt werden paramagnetische Partikel hinzugefügt und erneut für 9 Minuten inkubiert. Die Immunkomplexe werden an einer Elektrode mit einem Magnet fixiert, die Reste der Probe und der Antikörper werden ausgewaschen. Im letzten Schritt wird unter Verwendung von Elektrode Voltage in Anwesenheit von Tri-Propylamine (TPA) haltigem Buffer, die entstehende Electrochemiluminescence von einem Photomultiplier gemessen. Messungsbereich 1-250000 pg/ml. Bei den gesunden Kindern und bei den transplantierten wurden die Werte mit einer Genauigkeit von zwei Stellen nach dem Komma berücksichtigt.

Elektrokardiogramm

Üblicherweise wurden zwölf Ableitungen eingesetzt: drei bipolare Extremitätenableitungen nach Einthoven (I, II, III), drei unipolare Extremitätenableitungen nach Goldberg (aVR, aVL, aVF) und sechs unipolare Brustwandableitungen nach Wilson (V1-V6). Die Interpretation beim Kind setzt die Kenntnis der speziellen kardialen Physiologie in der Kindheit mit relativer Dominanz des rechten Ventrikel in der frühen Kindheit voraus. Während der Kind-

heit nimmt die linksventrikuläre Wanddicke zu, während die rechtsventrikuläre abnimmt. Die Aufzeichnung und Auswertung der EKG Untersuchungen erfolgte in der Kinderkardiologischen Abteilung der Universitäts-Kinderklinik Gießen unter der Leitung von Prof. Dr. med. D. Schranz.

Echokardiographie

Es wurden drei Verfahren eingesetzt: M- (time motion) Mode: Auf der X-Achse wird die Zeit aufgeführt, auf der Y-Achse ein Schnitt durch den linken und rechten Ventrikel. Bewertet wurden die Größe der Herzhöhlen und der Aortenwurzel, der Diameter des Myokards und dessen systolische Beweglichkeit sowie die Struktur und Beweglichkeit der Herzklappen. B- (Zweidimensionale Schnittbild-Echokardiographie) Mode: es erfolgt die Darstellung eines Echtzeit zweidimensionales Bild der anatomischen Strukturen. Häufige Einstellungen sind dabei: die Längs- und Querachse (von parasternal geschallt) und der vier- und zwei-Kammer-Blick (von Apikal (Herzspitze) geschallt). Doppler Echokardiographie: die Fließverhältnisse in den Herzhöhlen können kontinuierlich, gepulst oder farbkodiert dargestellt werden [12, 74, 40, 9].

Die Echokardiographie ist durch die auf die Denervation zurück zu führende Tachykardie bei Patienten nach Herztransplantation nicht so gut geeignet zum Nachweis einer diastolischen Dysfunktion [65].

Die Echokardiographie erfolgte in der Kinderkardiologischen Abteilung der Universitäts-Kinderklinik Gießen unter der Leitung von Prof. Dr. med. D. Schranz

2.3 Statistische Auswertung

Für die statistische Auswertung der im Rahmen dieser Studie erfassten Daten wurden sowohl Methoden der deskriptiven als auch der Inferenzstatistik angewandt.

2.3.1 Deskriptive Statistik

Es wurden verschiedene Methoden der deskriptiven Statistik eingesetzt um die beobachteten Kollektive zu beschreiben.

Häufigkeiten

Die Beschreibung von Häufigkeit, sowohl absolute als auch relative Häufigkeiten, wurde eingesetzt um Größenordnungen zu demonstrieren. Für die Übersichtlichkeit wurde eine Einteilung in Klassen vorgenommen, dabei mussten die Anzahl der Klassen und die Klassenweite beachtet werden, wobei die Klassenzahl im Normalfall die Klassenweite bestimmt, so dass die Klassen alle die gleiche Breite aufweisen. Für die Ermittlung der Klassenzahl wird meistens die Faustregel von Sturges von 1926: $m \approx 1 + 3,332 * \lg n$ (\lg = dekadischer Logarithmus; n = Stichprobenumfang) angewendet [11] [84] [26]. In dieser Arbeit wurde teilweise die vereinfachte Formel: $k = \sqrt{n}$ angewandt. Die Klassenweite wurde anschließend mittels Teilung der Spannweite durch die Klassenzahl ermittelt. Für die Darstellung der

Häufigkeitsverteilungen von BNP und NT-ProBNP in den verschiedenen Kollektiven wurde das Polygon gewählt. Die Häufigkeit der Patienten in den verschiedenen Klassen wurde ermittelt und auf die Y-Achse ausgedrückt. Auf der X-Achse ist jeweils die „Klassenmitte“ ($= \frac{\text{untereGrenze der Klasse} + \text{obereGrenze der Klasse}}{2}$) aufgeführt.

Lageparameter

Als repräsentative Größen zur Beschreibung der Kollektive wurden der arithmetischer Mittelwert, der Modus und der Median bestimmt; als Dispersionsmaße wurden die Spannweite, die Varianz, der Varianzkoeffizient und die Standardabweichung eingesetzt. Mittels Lageparameter kann auch die Symmetrie bzw. die Richtung der Schiefe einer asymmetrischen Verteilung beschrieben werden. Für die Abschätzung der Schiefe (Sch) wurde von Pearson 1895 folgende Formel entwickelt $Sch = \frac{\bar{x} - Mo}{s}$ (\bar{x} = arithmetischer Mittelwert; Mo = Modus = Modalwert). Bei Sch = 0 liegt eine symmetrische Verteilung vor, ist Sch < 0 ist die Verteilung rechtssteil, ist Sch > 0 liegt eine linkssteile Verteilung vor.

Graphische Darstellung

Für die Zusammensetzung der beschriebenen Stichprobe in Hinsicht auf bestimmte Merkmale wie Alter oder Event-Anzahl wurden Pie-Diagramme gewählt. Für die Darstellung von Parameter-Mittelwerte in unterschiedlichen Untergruppen wurden Bar-Diagramme eingesetzt, der Vergleich von Verteilungen in zwei Gruppen wurde mittels Histogramme verdeutlicht. Für die graphische Darstellung der Verteilungen der BNP und NT-ProBNP-Werte in den verschiedenen Kollektive wurden Polygone gewählt. In der Gruppe der Herztransplantierten wurde die Ereignis-freie Überlebenszeit mittels einer Kaplan-Maier-Überlebenskurve dargestellt.

2.4 Analytische Statistik

Die analytische Statistik beschäftigt sich mit der dem Zusammenhang zwischen der Empirie (erhobene Daten) und der Theorie (Annahmen über die Populationsparameter). Dabei ist die Definition von zwei Grundlegenden Begriffe fundamental:

Population Die interessierende Grundgesamtheit, in unserem Fall sind zwei Populationen zu beschreiben; die eine beinhaltet Personen die nach einer pädiatrischen orthotopen Herztransplantation an Spezialkliniken überwacht werden. Die zweite Population soll die Gesamtheit der gesunden Kinder beschreiben.

Stichprobe Da nicht die gesamte Population untersucht werden kann, wird eine Untergruppe dieser Population untersucht. Für die Ziehung einer Stichprobe sind viele Verfahren möglich, hier wurde die einfachste Form einer Cluster-Stichprobe, die Ad-hoc Stichprobe gewählt. Es handelt sich um alle Personen die nach einer pädiatrischen orthotopen Herztransplantation an einer bestimmten Spezialklinik (die Kinderkardiologie der Universitätsklinik der Justus-Liebig-Universität Gießen) überwacht werden, bzw. um gesunde Kinder die sich zur routinemäßigen Vorsorgeuntersuchung bei Dr. Wagner in

Gießen vorstellten. Einflüsse der Region und der Spezialisierung dieser Klinik bzw. dieses Arztes auf die Zusammensetzung der Stichprobe ist in diesem Fall anzunehmen.

Wenn diese zwei Begriffe definiert sind, kann der Zusammenhang zwischen der Stichprobe und der Grundgesamtheit untersucht werden, auch hier gibt es zwei Möglichkeiten:

1. Der Schluss von Empirie (erhobene Lageparameter der Stichprobe) auf Theorie (Populationseigenschaften), diese Möglichkeit besteht vor allem bei Normalverteilten Merkmalen mit geringer Streubreite.
2. Die Übereinstimmung der Empirie mit angenommenen Eigenschaften der Population. Hierbei handelt es sich um die Überprüfung von Hypothesen.

Bei der Überprüfung von Hypothesen wird zuerst die Alternativhypothese (H_1) formuliert, in dieser Studie wurden ungerichtete Zusammenhangs- und Unterschiedshypothesen gestellt, anschließend wird die Nullhypothese (H_0) formuliert, mit der die komplementäre Aussage zur Alternativhypothese formuliert wird. Die Prüfung der statistischen Alternativhypothese wird per Umkehrschluss erreicht, wenn die H_0 Hypothese „praktisch“ nicht mit der Realität vereinbar ist. Bei den auf diese Art von Analyse beruhenden Aussagen müssen die Fehlerarten (α und β) berücksichtigt werden.

α – Fehler Die H_0 Hypothese wird fälschlicher Weise abgelehnt

β – Fehler Die H_0 Hypothese wird fälschlicher Weise beibehalten

Die Wahrscheinlichkeit des Auftretens vom α – Fehler wird als Irrtumswahrscheinlichkeit bezeichnet, bevor die Daten analysiert werden muss eine Irrtumswahrscheinlichkeit festgelegt werden die als Signifikanzniveau dient. In der Medizin wird meist, je nach Konsequenz eines evtl. Fehlers, das Signifikanzniveau bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $< 5\%$ bzw. $< 1\%$ festgelegt. In dieser Arbeit wurde das Signifikanzniveau auf $< 5\%$ festgelegt, lag das Signifikanzniveau $< 1\%$ wurde das Ergebnis als „sehr signifikant“ bezeichnet. allerdings muss an dieser Stelle noch mal erwähnt werden, dass ein nicht signifikantes Ergebnis, nicht die Richtigkeit der Nullhypothese beweist [11, 84, 26].

In dieser Arbeit werden verschiedene statistische Verfahren eingesetzt um den die Theorie durch empirische Daten bestätigen oder ablehnen zu können.

Pearson Korrelation als Voraussetzung für die Durchführung dieser Produkt-Moment-Korrelation müssen die Variablen mindestens Intervallskaliert sein. Es wird der lineare Zusammenhang zweier Variablen untersucht und mit einem Wert zwischen -1 und $+1$ ausgedrückt.

t-Test für unabhängige Stichproben Es werden die Mittelwerte zwei von einander unabhängiger Gruppen mit einander verglichen, um deren eventuellen Zugehörigkeit zu unterschiedlichen Grundgesamtheiten zu untersuchen.

Lineare Regression die Abhängigkeit eines Wertes von einem anderen wird untersucht, in der graphischen Darstellung würden bei einer perfekten Korrelation die Punkte alle auf einer Geraden liegen.

[11, 84, 26]

2.5 Datenverarbeitung

Die Datenerfassung sowie die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit den Software-Programmen OpenOffice.org Calc, Version 2.4 und dem statistischen Auswertungsprogramm SPSS, 13.0 for Windows.

3 Ergebnisse

3.1 Gesunde Kinder

Bei 87 gesunden Kindern wurde im Rahmen einer Routineuntersuchung durch eine Venenpunktion Blut für die Untersuchung von BNP und NT-proBNP gewonnen.

Anzahl der Messungen

Bei allen 87 Probanden wurde jeweils BNP bestimmt, bei sechs Probanden reichte das Material nicht für eine zusätzliche NT-proBNP Bestimmung aus, somit gingen in die Referenzbereichsermittlung für NT-proBNP 81 Werte ein.

Alter der Probanden

Es wurden Probanden zwischen dem ersten und neunzehnten Lebensjahr untersucht, im Mittel $9,17 \pm 4,42$ Jahre mit einem Median von zwölf Jahren. Die Klassenzahl wurde mittels der vereinfachten Gleichung $k = \sqrt{n}$ ermittelt (k = Klassenzahl und n = Stichprobenumfang, wobei hier der Stichprobenumfang nicht an der Anzahl der Patienten sondern an den vorhandenen Altersgruppen in Jahren festgemacht wurde). Die Altersverteilung erfolgte also in k = 4 Klassen. Die Klassenweite ist definiert durch Spannweite / Klassenzahl, im vorliegendem Fall: $4,5 \approx 4$ (s. Abb. 4).

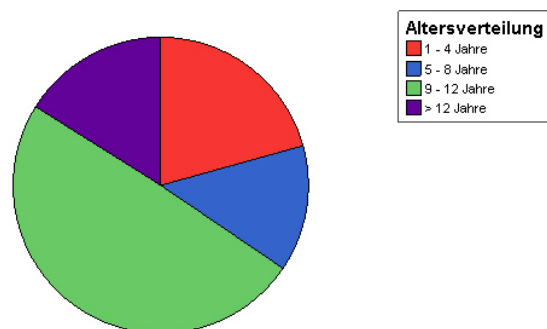


Abbildung 4: Altersverteilung: Gesunde Kinder

Geschlechtsverteilung der gesunden Probanden

Untersucht wurden insgesamt 51 männliche und 36 weibliche Probanden. In die Statistik gingen 51 BNP- und 47 NT-proBNP-Werte von männlichen Probanden, sowie 36 BNP und 34

NT-proBNP-Werte von weiblichen Probanden ein.

3.1.1 Referenzwerte von BNP im Kindesalter

Die 87 BNP-Werte lagen im Bereich zwischen 0 und 50 pg/ml im Mittel bei 10 ± 9 pg/ml. Der Median lag bei 8 pg/ml. Für die hier vorliegende linksgipflige Verteilung gilt: der Modus (3 pg/ml) ist kleiner als der Median (8 pg/ml) und dieser ist kleiner als der Arithmetischer Mittelwert (10 pg/ml). Nur zehn der Probanden lagen mit dem BNP-Wert über 20 pg/ml. Auch hier erfolgte für die Darstellung eine Einteilung in Klassen, die Anzahl der Klassen wurde mit der Faustregel von Sturges (1926): $m \approx 1 + 3,332 * \lg n$ (lg = dekadischer Logarithmus; n = Stichprobenumfang) ermittelt: $k = 7$. Entsprechend lag die Klassenweite (berechnet durch Spannweite/Klassenzahl) bei $50/7 \approx 7,14$

In der graphischen Darstellung werden die Klassenmitten auf der X-Achse des Polygons dargestellt (s. Abb. 5).

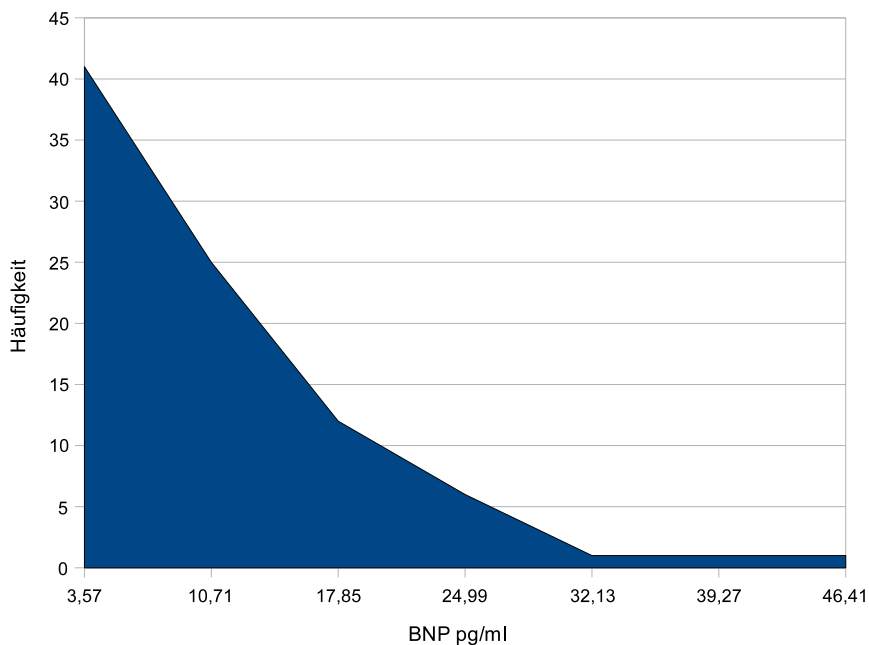


Abbildung 5: Normalwerte von BNP bei Kinder

Referenzwerte von BNP in Abhängigkeit vom Alter

Es erfolgte eine Einteilung der gesunden Probanden nach deren Alter in 4 Gruppen (s. Abb. 6), die Einteilung der Altersgruppen wurde bereits unter "Alter der Probanden" (s.o), besprochen.

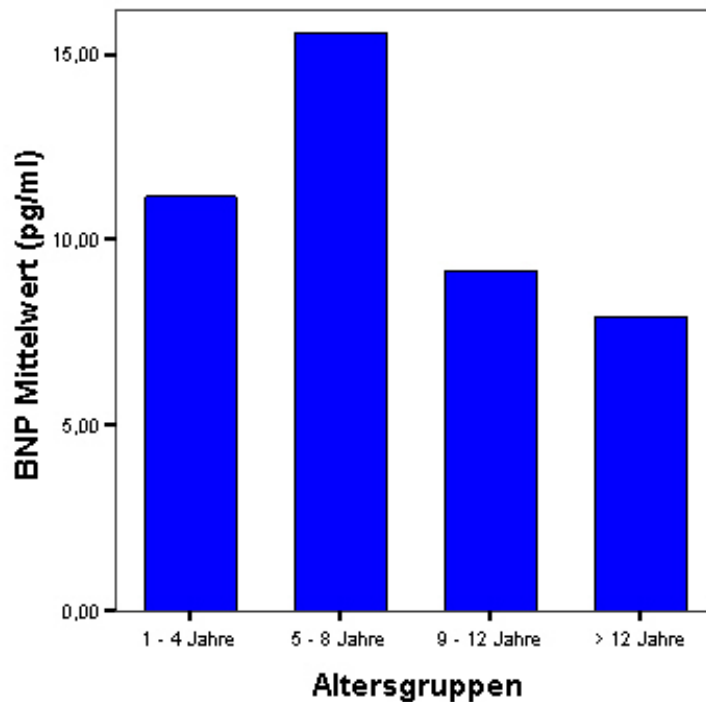


Abbildung 6: Altersbezogene Mittelwerte von BNP bei gesunden Probanden

- In der Gruppe 1-4 Jahre befanden sich 18 Probanden mit BNP-Werten zwischen 2 und 27 pg/ml, im Mittel 11 ± 7 pg/ml.
- In der Gruppe 5-8 Jahre befanden sich 12 Probanden mit BNP-Werten zwischen 3 und 50 pg/ml, im Mittel 15 ± 13 pg/ml.
- In der Gruppe 9-12 Jahre befanden sich 43 Probanden mit BNP-Werten zwischen 0 und 37 pg/ml, im Mittel 9 ± 8 pg/ml.
- In der Gruppe > 12 Jahre befanden sich 14 Probanden mit BNP-Werten zwischen 0 und 24 pg/ml, im Mittel 8 ± 7 pg/ml.

Um den eventuellen Einfluss des Alters auf den BNP-Wert zu überprüfen, wurde ein Pearson Test durchgeführt. Die Korrelation ergab $-0,139$, damit werden nur ca. 2% der Unterschiede erklärt, die anschließende Überprüfung auf zweiseitige Signifikanz ergab 0,198. Da die vordefinierte Signifikanz bei 5% liegt, konnte die Nullhypothese (BNP ist unabhängig vom

Alter bei gesunden Kindern) nicht verworfen werden. Es wurde keine signifikante Korrelation zwischen Alter und BNP-Wert bei gesunden Kindern angenommen.

Referenzwerte von BNP in Abhängigkeit vom Geschlecht

Bei gesunden Erwachsenen wurden in mehreren Studien überwiegend höhere BNP-Werte bei Frauen als bei Männern beobachtet [70]. Daher wurde untersucht, ob auch im vorliegenden Kollektiv gesunder Kinder ein Unterschied zwischen den BNP-Werten männlicher und weiblicher Kindern besteht. Um den eventuellen Einfluss des Geschlechts auf den BNP-Wert statistisch zu sichern wurde ein unabhängiger t-Test durchgeführt; die BNP-Werte der männlichen Kinder wurden mit denen der weiblichen Kinder Altersgruppen übergreifend verglichen. Bei der Überprüfung auf Gleichheit der Gruppen ergab der t-Test mit 85 Freiheitsgraden einen Wert von $-0,037$, dieses entspricht einer zweiseitigen Signifikanz von $0,971$, welche deutlich die 5% Grenze überschreitet. Somit wird die Nullhypothese (die zwei Gruppen stammen aus einer Grundgesamtheit) nicht verworfen. Es wird keine Abhängigkeit des BNP-Werts vom Geschlecht angenommen. Untersucht wurden insgesamt 51 männliche und 36 weibliche gesunde Kinder; dabei konnten keine Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Kindern beobachtet werden (s. Tab. 1). In dieser Arbeit wurden die Pubertätsstadien der Probanden nicht

Tabelle 1: BNP Normalwerte in Abhängigkeit vom Geschlecht

	Mittelwert	Standardabweichung
Männliche	10 pg/ml	9 pg/ml
Weibliche	10 pg/ml	8 pg/ml

mitberücksichtigt, weitere Untersuchungen sind nötig um den eventuellen Einfluss der Pubertät bei Jugendlichen auf die BNP Abhängigkeit vom Geschlecht zu untersuchen.

3.1.2 Referenzwerte von NT-proBNP im Kindesalter

Die 81 NT-proBNP-Werte lagen im Bereich zwischen 5,52 und 253 pg/ml, im Mittel bei $66,41 \pm 61,04$ pg/ml. Auch bei den Normalwerten für NT-proBNP zeigt sich eine linksgipflige Verteilung. Auch hier erfolgte für die Darstellung eine Einteilung in Klassen; die Anzahl der Klassen wurde mit der Faustregel von Sturges (1926): $m \approx 1 + 3,332 * \lg n$ (\lg = dekadischer Logarithmus; n = Stichprobenumfang) ermittelt: $k = 7$. Entsprechend lag die Klassenweite (berechnet durch Spannweite/Klassenzahl = $247/7$) bei ≈ 35

In der graphischen Darstellung werden die Klassenmitten auf der X-Achse des Polygons dargestellt (Abb. 7).

Referenzwerte von NT-proBNP in Abhängigkeit vom Alter

Es erfolgte eine Einteilung der gesunden Probanden nach deren Alter in 4 Gruppen (Abb. 8), die Einteilung der Altersgruppen wurde bereits unter "Alter der Probanden" (s.o.) besprochen.

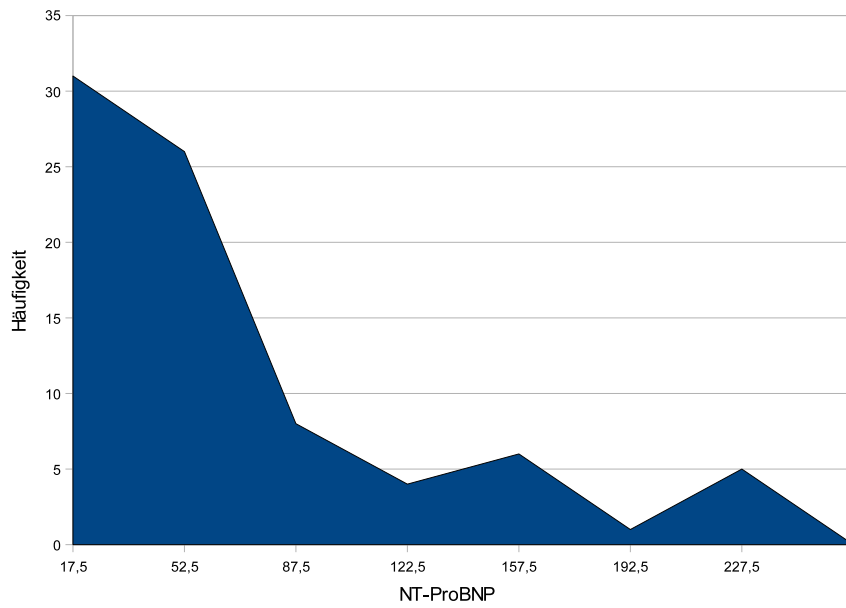


Abbildung 7: NT-proBNP Normalwerte bei Kindern

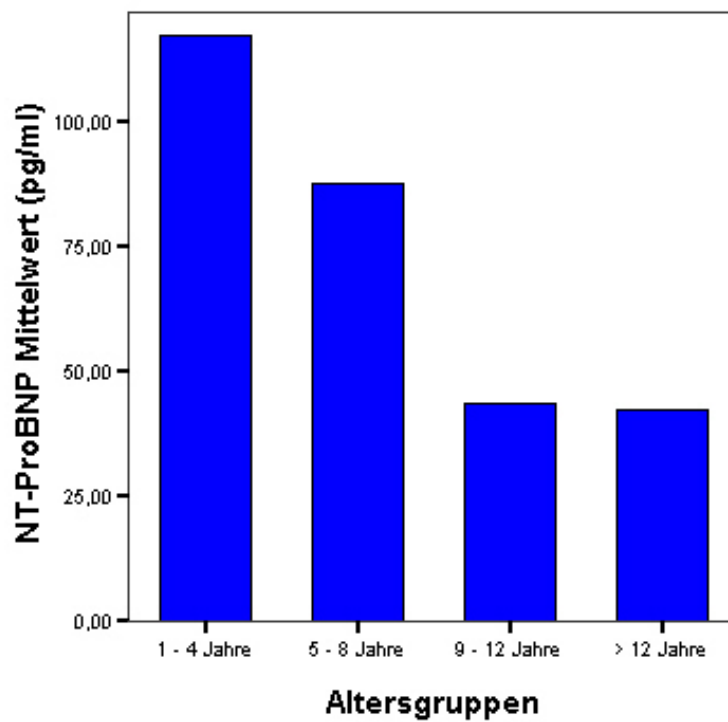


Abbildung 8: Altersbezogene Mittelwerte von NT-proBNP bei gesunden Probanden

- In der Gruppe 1-4 Jahre wurden 18 Probanden untersucht mit NT-proBNP-Werten zwischen 26,38 und 253,00 pg/ml, im Mittel $117,27 \pm 73,69$ pg/ml.
- In der Gruppe 5-8 Jahre wurden 12 Probanden untersucht mit NT-proBNP-Werten zwischen 29,13 und 241,00 pg/ml, im Mittel $87,67 \pm 89,81$ pg/ml.
- In der Gruppe 9-12 Jahre wurden 39 Probanden untersucht mit NT-proBNP-Werten zwischen 5,52 und 250,00 pg/ml, im Mittel $43,77 \pm 44,96$ pg/ml.
- In der Gruppe > 12 Jahre wurden 12 Probanden untersucht mit NT-proBNP-Werten zwischen 6,37 und 112,00 pg/ml, im Mittel $42,48 \pm 31,19$ pg/ml.

Um den eventuellen Einfluss des Alters auf den NT-proBNP-Wert genauer zu untersuchen wurde ein Pearson Test durchgeführt. Die Korrelation ergab $-0,523$; damit werden ca. 27% der Unterschiede erklärt, die anschließende Überprüfung auf zweiseitige Signifikanz ergab 0,01. Da die vordefinierte Signifikanz bei 5% liegt, kann die Nullhypothese (NT-proBNP ist unabhängig vom Alter bei gesunden Kindern) verworfen werden. Es kann eine Korrelation zwischen Alter und NT-proBNP-Wert bei gesunden Kindern demzufolge angenommen werden.

Referenzwerte von NT-proBNP in Abhängigkeit vom Geschlecht

Auch NT-proBNP scheint bei erster Betrachtung keine geschlechtsspezifischen Unterschiede im Kindesalter aufzuweisen (Tab. 2).

Tabelle 2: NT-proBNP Normalwerte in Abhängigkeit vom Geschlecht

	Mittelwert	Standardabweichung
Männliche	64,35 pg/ml	59,95 pg/ml
Weibliche	69,27 pg/ml	63,30 pg/ml

Um den eventuellen Einfluss des Geschlechts auf den NT-proBNP-Wert statistisch zu untersuchen, wurden in einem unabhängigen t-Test die Werte der männlichen Kindern mit denen der weiblichen Kindern verglichen. Bei der Überprüfung auf Gleichheit der Gruppen ergab der t-Test mit 79 Freiheitsgraden einen Wert von 0,356; dieses entspricht einer zweiseitigen Signifikanz von 0,723, welche deutlich die 5% Grenze überschreitet. Somit wurde die Nullhypothese (die zwei Gruppen stammen aus einer Grundgesamtheit) nicht verworfen und damit keine Abhängigkeit des NT-proBNP-Werts vom Geschlecht angenommen.

3.1.3 Vergleich von BNP und NT-proBNP-Werten bei gesunden Kindern

Die Werte von BNP und NT-proBNP unterschieden sich auch bei gesunden Kindern stark, somit ist ein direkter Vergleich der Mittelwerte oder der Streuungsparameter hier nicht geeignet. Eine lineare Regression mit BNP als abhängige Variable und NT-proBNP als unabhängige Variable beschreibt die Abhängigkeit dieser zwei Werte von einander. Diese Untersuchung ergab

bei den gesunden Kindern einen R-Quadrat von 0,556. Dies bedeutet, dass nur etwa 55% der Varianz von BNP mit Hilfe der NT-proBNP-Werten vorhergesagt werden kann (Abb. 9).

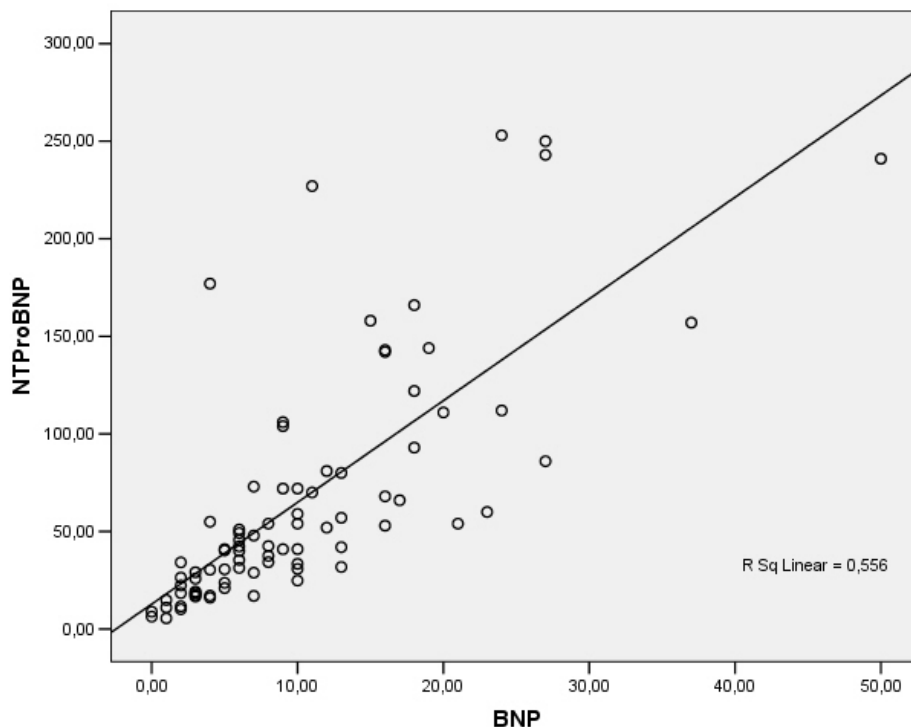


Abbildung 9: Lineare Regression von BNP in Abhängigkeit von NT-proBNP bei gesunden Kindern

Um die Variabilität dieser beiden Parameter vergleichen zu können, wurden die Varianzkoeffizienten bestimmt. Der Varianzkoeffizient berechnet sich aus dem Quotienten von Standardabweichung und arithmetischem Mittel und ist dimensionslos (wird aber häufig prozentual ausgedrückt). Der Unterschied zwischen beiden Wertlagen wird rechnerisch eliminiert, so wird ein Vergleich ermöglicht. Der Varianzkoeffizient beider Werte liegt mit 87% bzw. 92% relativ hoch; beide Werte zeigen eine ähnliche Streubreite.

3.2 Kinder nach orthotoper Herztransplantation

Bei 83 Kindern nach orthotoper Herztransplantation wurde im Rahmen der Nachsorgeuntersuchungen durch eine einfache Venenpunktion Blut abgenommen.

Anzahl der Messungen

Es wurden bei insgesamt 461 BNP-Werte bei den Patienten bestimmt, im Mittel 5,9 Werte pro Kind.

In 353 Fällen wurde bei diesen Kindern NT-proBNP bestimmt, im Mittel 4,6 Werte pro Kind. Die Häufigkeit der Messungen hing vom klinischem Zustand des Patienten, und von der Zeit, die seit der Transplantation vergangen war, ab.

Alter der Patienten

Untersucht wurden Patienten zwischen dem ersten und dreißigsten Lebensjahr, im Mittel $8,3 \pm 5,47$ Jahre, Median 8 Jahre. Um einen Vergleich mit der Kontrollgruppe der gesunden Probanden zu erlauben, wurden auch hier die gleichen Altersgruppen ausgesucht; so wurde auch dieses Kollektiv in vier Gruppen unterteilt (Abb. 10).

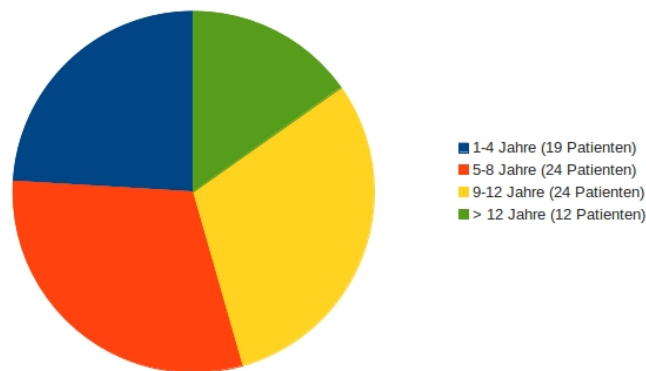


Abbildung 10: Altersverteilung: Kinder nach orthotoper Herztransplantation

Jahre seit der Transplantation

Bei Kindern nach einer Herztransplantation erscheint es sinnvoll, nicht nur das Lebensalter, sondern auch die Zeit, die seit der Transplantation vergangen ist zu berücksichtigen. In die Studie gingen Patienten ein, deren Herztransplantation zwischen sechs Monate und sechzehn Jahre, im Mittel $6,2 \pm 4,2$ Jahre vor Studienbeginn zurücklag. Für weitere Berechnung wurde hier auch nach der vereinfachten Formel ($k = \sqrt{n}$) die Stichprobe in vier Klassen eingeteilt, mit der Klassenbreite (Spannweite/Klassenzahl) = 4 Jahre. Die Verteilung der Patienten auf diese vier Klassen ist in Abb. 11 dargestellt.

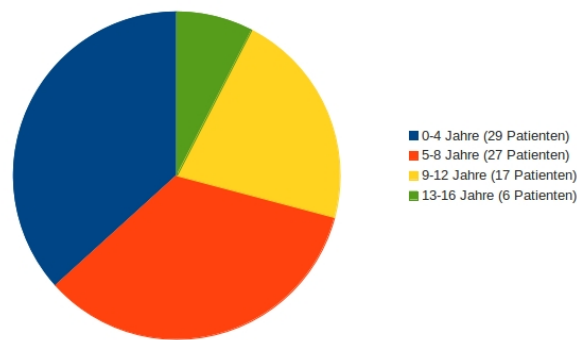


Abbildung 11: Jahre seit der Transplantation

Geschlechtsverteilung der herztransplantierten Patienten

Es wurden insgesamt 54 männliche und 29 weibliche Patienten nach orthotoper Herztransplantation untersucht. In die Statistik gingen 339 BNP-Werte von männlichen Patienten, durchschnittlich 6 Werte pro Patient und 189 BNP-Werte von weiblichen Patientinnen, durchschnittlich 6 Werte pro Patientin ein.

Weiterhin gingen 254 NT-proBNP-Werte von männlichen Patienten, durchschnittlich 5 Werte pro Patient und 143 NT-proBNP-Werte von weiblichen Patientinnen, durchschnittlich 5 Werte pro Patientin ein.

3.2.1 Verteilung der BNP-Werte nach pädiatrischer orthotoper Herztransplantation

Die 528 gemessenen Werte lagen im Bereich zwischen 5 und 858 pg/ml. Da unterschiedlich viel BNP-Werte pro Patient vorlagen, wurden die mittleren BNP-Werte dieses Kollektivs aus den Mittelwerten der einzelnen Patienten bestimmt. Zur Beschreibung dieses Kollektivs dienten der Mittelwert mit $87,96 \pm 54,7$ pg/ml und der Median mit 75,71 pg/ml. Die mittlere Standardabweichung betrug 38,81 pg/ml. Auch hier erfolgte für die Darstellung eine Einteilung in Klassen; die Anzahl der Klassen wurde mit der Faustregel von Sturges (1926): $m \approx 1 + 3,332 * \lg n$ (lg = dekadischer Logarithmus; n = Stichprobenumfang) ermittelt: k = 7. Entsprechend lag die Klassenweite (berechnet durch Spannweite/Klassenzahl = $363,24/7$) bei 51,89 pg/ml

In der graphischen Darstellung werden die Klassenmitten auf der X-Achse des Polygons dargestellt (Abb. 12)

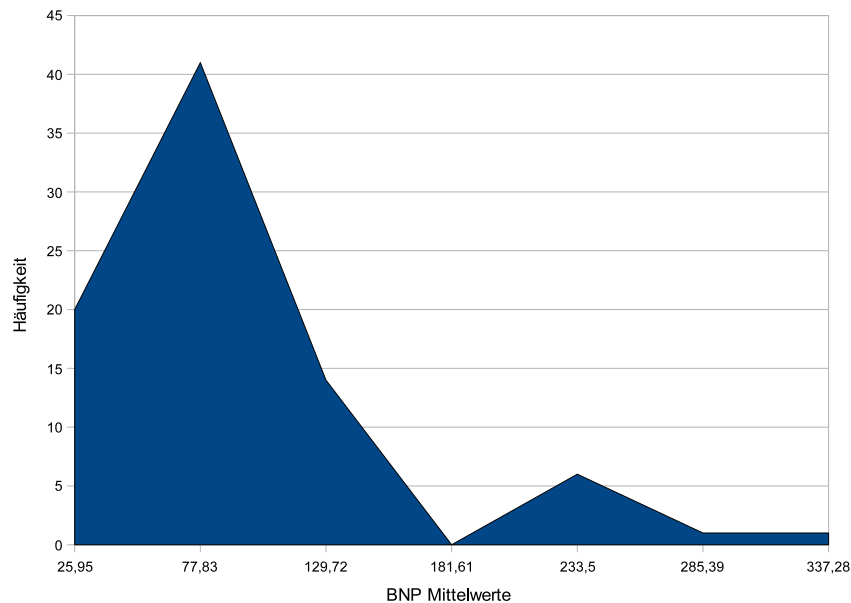


Abbildung 12: Verteilung der BNP-Mittelwerte bei Kindern nach orthotoper Herztransplantation

3.2.2 Vergleich von BNP-Werten herztransplantierter mit denen gesunder Kinder

Schon anhand der Verteilungen kann ein Unterschied zwischen beiden Gruppen beobachtet werden, eine nähere Betrachtung erfolgte mittels t-Test für unabhängige Stichproben.

Bei der Überprüfung auf Gleichheit der BNP-Werte ergab der t-Test mit 168 Freiheitsgraden einen Wert von $-13,072$; dieses entspricht einer zweiseitigen Signifikanz von $0,000$, welche sehr deutlich die 5% Grenze unterschreitet. Somit wird die Nullhypothese (die zwei Gruppen stammen aus einer Grundgesamtheit) verworfen. Es stellt sich ein sehr klarer Unterschied der BNP-Werte von gesunden Kindern und von Kindern nach orthotoper Herztransplantation dar (s. Abb. 13)

3.2.3 BNP-Werte transplantierter Kinder in Abhängigkeit vom Alter

Es erfolgte eine Einteilung der Patienten nach deren Alter zu Beginn der Studie in vier Gruppen, (s.o) unter "Alter der Patienten". Auch hier wurden für einzelne Patienten nur deren Mittelwerte berücksichtigt (Abb. 14).

- In der Gruppe 1-4 Jahre wurden 23 Patienten untersucht mit BNP-Mittelwerten zwischen 26 und 152 pg/ml, im Mittel 85 ± 32 pg/ml.

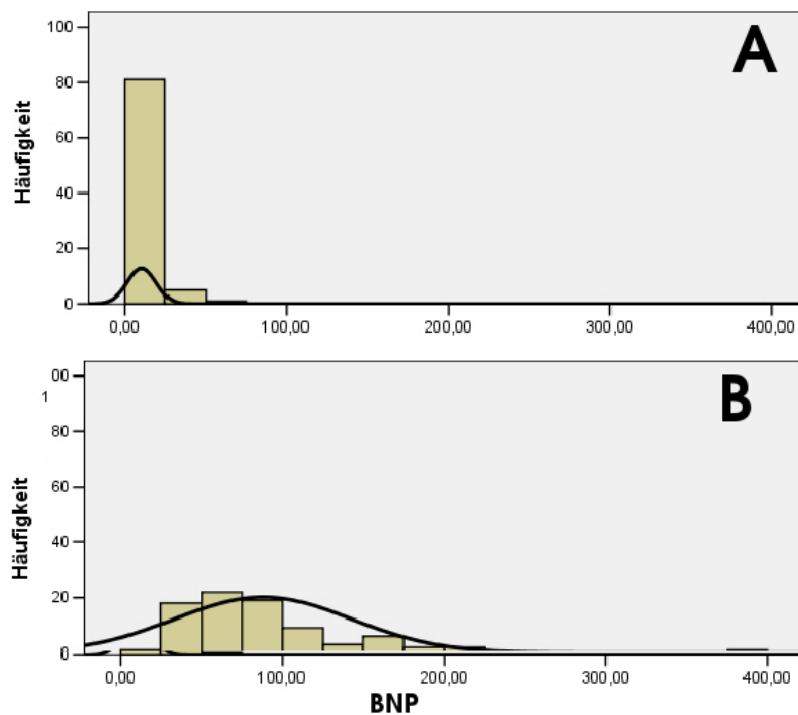


Abbildung 13: BNP der gesunden Kinder (A) und der herztransplantierten Patienten (B) im Vergleich

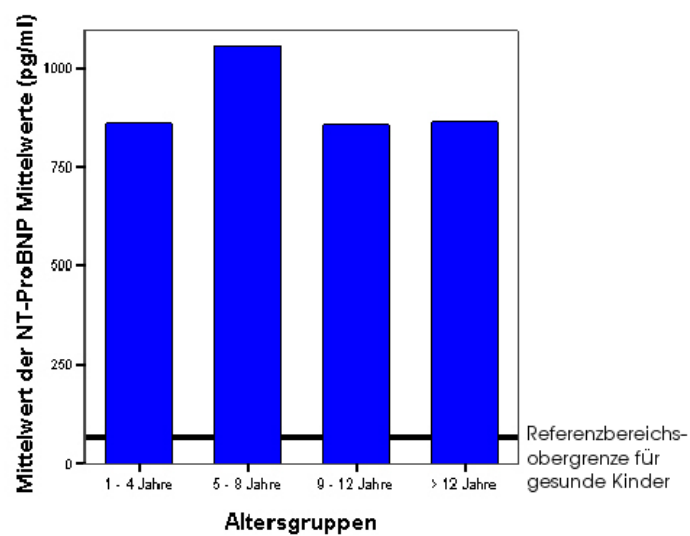


Abbildung 14: Altersbezogene Mittelwerte der herztransplantierten Patienten

- In der Gruppe 5-8 Jahre wurden 24 Patienten untersucht mit BNP-Mittelwerten zwischen 30 und 203 pg/ml, im Mittel 99 ± 45 pg/ml.
- In der Gruppe 9-12 Jahre wurden 24 Patienten untersucht mit BNP-Mittelwerten zwischen 19 und 383 pg/ml, im Mittel 78 ± 74 pg/ml.
- In der Gruppe > 12 Jahre wurden 12 Patienten untersucht mit BNP-Mittelwerten zwischen 33 und 208 pg/ml, im Mittel 90 ± 64 pg/ml

Um den eventuellen Einfluss des Alters auf den BNP-Wert genauer zu untersuchen wurde ein Pearson Test durchgeführt, in dem das Alter mit dem Mittelwert des Patienten verglichen wurde. Die Korrelation ergab $-0,053$. Damit werden nur ca. 0,2% der Unterschiede erklärt, die anschließende Überprüfung auf zweiseitige Signifikanz ergab 0,637. Da die vordefinierte Signifikanz bei 5% lag, kann die Nullhypothese (BNP ist unabhängig vom Alter bei Kindern nach orthotoper Herztransplantation) nicht verworfen werden. Es wurde daher keine Korrelation zwischen Alter und BNP-Mittelwerten bei Kindern nach orthotoper Herztransplantation angenommen.

3.2.4 BNP-Werte transplantierte Kinder in Abhängigkeit von dem seit Transplantation verstrichenen Intervall

Die Einteilung erfolgte in vier Klassen mit der Klassenweite von vier Jahren.

- Es wurden 32 Patienten untersucht, die innerhalb von 4 Jahren vor Studienbeginn transplantiert wurden, mit intraindividuellen BNP-Mittelwerten zwischen 26 und 203 pg/ml, im Mittel 82 ± 37 pg/ml.
- Es wurden 28 Patienten untersucht die 5 - 8 Jahre vor Studienbeginn transplantiert wurden, mit BNP-Mittelwerten zwischen 30 und 383 pg/ml, im Mittel 109 ± 67 pg/ml.
- Es wurden 17 Patienten untersucht die 9 - 12 Jahre vor Studienbeginn transplantiert wurden, mit BNP-Mittelwerten zwischen 19 und 208 pg/ml, im Mittel 62 ± 45 pg/ml.
- Es wurden 6 Patienten untersucht die 13 - 16 Jahre vor Studienbeginn transplantiert wurden, mit BNP-Mittelwerten zwischen 33 und 197 pg/ml, im Mittel 91 ± 67 pg/ml.

(Abb. 15).

Um den eventuellen Einfluss der seit Transplantation vergangen Zeit auf die BNP-Werte zu überprüfen, wurde eine Pearson Korrelation durchgeführt. Der Test ergab einen Wert von $-0,009$; dies erklärt weitaus weniger als 1% der Unterschiede. Eine Überprüfung auf die zweiseitige Signifikanz ergab 0,936 bei einer vordefinierten Signifikanz von 5% konnte die Nullhypothese (BNP ist bei Kindern nach orthotoper Herztransplantation unabhängig von der Zeit nach der Transplantation) nicht verworfen werden. Es wurde keine Korrelation zwischen Zeit nach der Transplantation und BNP-Mittelwerten nach orthotoper Herztransplantation angenommen.

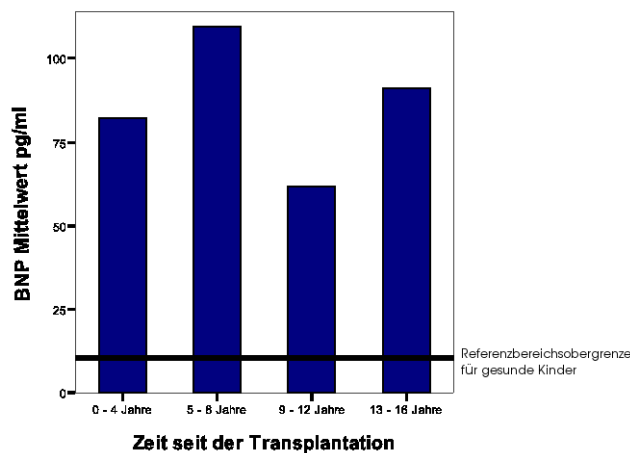


Abbildung 15: Mittelwerte von BNP bezogen auf die Zeit seit der Transplantation

3.2.5 BNP-Werte transplantierte Kinder in Abhängigkeit vom Geschlecht

Bei den gesunden Kindern wurde kein Einfluss des Geschlechts auf die BNP-Konzentration beobachtet; die Untersuchung des Einflusses des Geschlechts auf die BNP-Werte bei den Patienten bezieht sich auf die Mittelwerte der einzelnen Patienten. Die Mittelwerte und Standardabweichungen von BNP weiblicher und männlicher Patienten ist in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: BNP-Mittelwerte transplantierte Kinder in Abhängigkeit vom Geschlecht

	Anzahl	BNP-Mittelwert	Standardabweichung
Patientinnen	29	75,85 pg/ml	34,73 pg/ml
Patienten	54	94,46 pg/ml	62,19 pg/ml

Um einen eventuellen Einfluss des Geschlechts auf den BNP-Mittelwert zu überprüfen, wurde ein unabhängiger t-Test zum statistischen Vergleich von BNP-Werten männlicher und weiblicher Kinder durchgeführt. Die Pubertätsstadien wurden nicht berücksichtigt, daher kann keine Aussage über den eventuellen Einfluss des Geschlechts nach der Pubertät auf die BNP-Werte gemacht werden. Bei der Überprüfung auf Gleichheit der Gruppen ergab der t-Test mit 81 Freiheitsgraden einen Wert von $-1,489$, dieses entspricht einer zweiseitigen Signifikanz von $0,140$, welche deutlich die 5% Grenze überschreitet. Somit wurde die Nullhypothese (die zwei Gruppen stammen aus einer Grundgesamtheit) nicht verworfen. Es wurde daher keine Abhängigkeit der intraindividuellen BNP-Mittelwerte vom Geschlecht nach orthotoper Herztransplantation angenommen.

3.2.6 Verteilung der NT-proBNP-Werte nach pädiatrischer Herztransplantation

Die 397 gemessenen NT-proBNP-Werte lagen im Bereich zwischen 51 und 8475 pg/ml. Da unterschiedlich viel NT-proBNP-Werte pro Patient vorlagen, wurden die mittleren NT-proBNP-Werte dieses Kollektivs aus den individuellen Mittelwerten der einzelnen Patienten bestimmt. Zur Beschreibung dieses Kollektivs dienen der Mittelwert von $901,71 \pm 880,95$ pg/ml und der Median mit 657,71 pg/ml. Die mittlere Standardabweichung betrug 412,55 pg/ml. Auch hier erfolgte für die Darstellung eine Einteilung in Klassen, die Anzahl der Klassen wurde mit der Faustregel von Sturges (1926): $m \approx 1 + 3,332 * \lg n$ (\lg = dekadischer Logarithmus; n = Stichprobenumfang) ermittelt: $k = 7$. Entsprechend lag die Klassenweite (berechnet durch Spannweite/Klassenzahl = $5986/7$) bei ≈ 855

In der graphischen Darstellung werden die Klassenmitten auf der X-Achse des Polygons dargestellt (Abb. 16).

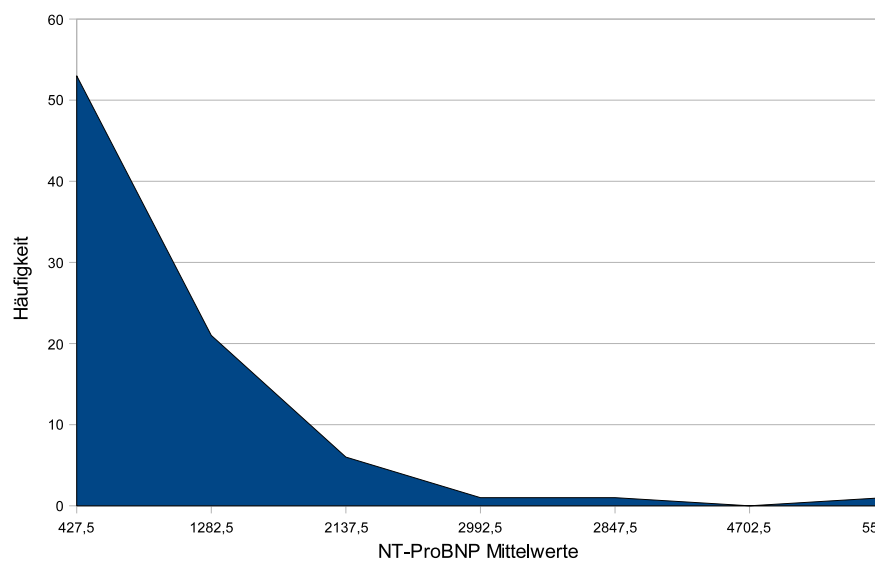


Abbildung 16: Verteilung der NT-proBNP-Mittelwerte bei Kindern nach orthotoper Herztransplantation

3.2.7 Vergleich von NT-proBNP-Werten herztransplantierter mit denen gesunder Kinder

Schon anhand der Verteilungen kann ein Unterschied zwischen beiden Gruppen beobachtet werden, eine nähere Betrachtung erfolgte mittels t-Test für unabhängige Stichproben.

Die NT-proBNP-Werte der gesunden Kinder und der Kinder nach orthotoper Herztransplantation wurden verglichen; bei der Überprüfung auf Gleichheit ergab ein t-Test mit 161 Freiheitsgraden einen Wert von $-8,628$, dieses entspricht einer zweiseitigen Signifikanz von 0,000, welche sehr deutlich die 5% Grenze unterschreitet. Somit wird die Nullhypothese (die zwei

Gruppen stammen aus einer Grundgesamtheit) verworfen. Die NT-proBNP-Werte der Patienten unterscheiden sich ebenso wie die BNP-Werte statistisch signifikant von denen der gesunden Kindern (Abb. 17).

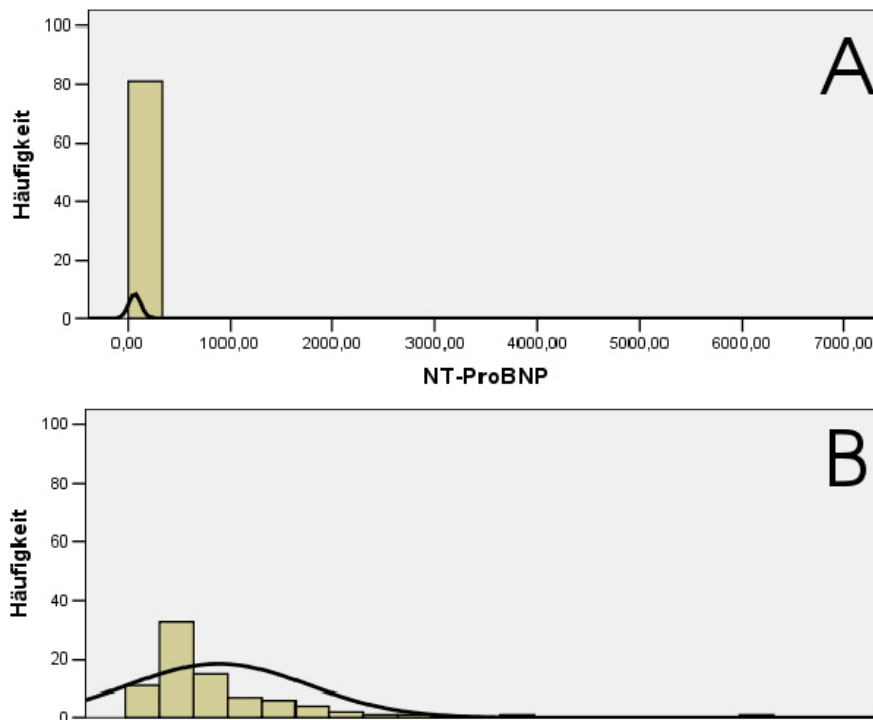


Abbildung 17: NT-proBNP gesunder Kinder (A) und herztransplantierter Patienten (B)

3.2.8 NT-proBNP-Werte transplanteder Kinder in Abhängigkeit vom Alter

Die Einteilung erfolgt nach dem Alter der Patienten in vier Gruppen (Abb. 18).

- In der Gruppe 1-4 Jahre wurden 23 Patienten untersucht mit NT-proBNP-Mittelwerten zwischen 220 und 2095 pg/ml, im Mittel 858 ± 460 pg/ml.
- In der Gruppe 5-8 Jahre wurden 23 Patienten untersucht mit NT-proBNP-Mittelwerten zwischen 155 und 3961 pg/ml, im Mittel 1054 ± 868 pg/ml.
- In der Gruppe 9-12 Jahre wurden 24 Patienten untersucht mit NT-proBNP-Mittelwerten zwischen 174 und 6139 pg/ml, im Mittel 855 ± 1192 pg/ml.
- In der Gruppe > 12 Jahre wurden 12 Patienten untersucht mit NT-proBNP-Mittelwerten zwischen 153 und 2925 pg/ml, im Mittel 862 ± 866 pg/ml.

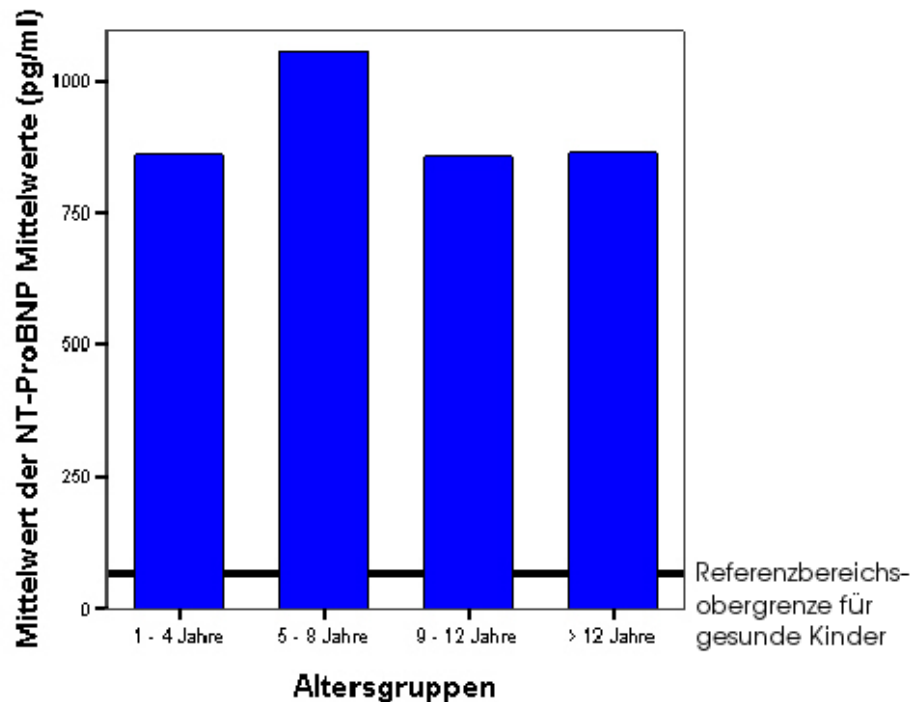


Abbildung 18: Altersbezogene NT-proBNP-Mittelwerte herztransplantierte Patienten

Eine genauere Überprüfung des Einflusses vom Alter der Patienten auf die NT-proBNP-Werte erfolgte mittels eines Pearson Test, in dem das Alter mit den NT-proBNP-Mittelwerten der entsprechenden Patienten verglichen wurden. Die Korrelation ergab $-0,065$; damit werden nur ca. 0,4% der Unterschiede erklärt, die anschließende Überprüfung auf zweiseitige Signifikanz ergab 0,564. Da die vordefinierte Signifikanz bei 5% lag, konnte die Nullhypothese (NT-proBNP ist unabhängig vom Alter bei Kindern nach orthotoper Herztransplantation) nicht verworfen werden. Es wurde keine Korrelation zwischen Alter und NT-proBNP-Mittelwerte bei Kindern nach orthotoper Herztransplantation angenommen.

3.2.9 NT-proBNP-Werte transplantierte Kinder in Abhängigkeit von dem seit Transplantation verstrichenen Intervall

Die Einteilung erfolgte in vier Klassen mit der Klassenweite von vier Jahren (Abb. 19).

- Es wurden 32 Patienten untersucht die innerhalb von 4 Jahren vor Studienbeginn transplantiert wurden. Sie wiesen NT-proBNP-Mittelwerte zwischen 208 und 2505 pg/ml, im Mittel $812,4 \pm 523$ pg/ml auf.

- Es wurden 27 Patienten untersucht, die 5 - 8 Jahre vor Studienbeginn transplantiert wurden. Die NT-proBNP-Mittelwerten lagen zwischen 155 und 6139 pg/ml, im Mittel 1187 ± 1251 pg/ml.
- Es wurden 17 Patienten untersucht, die 9 - 12 Jahre vor Studienbeginn transplantiert wurden. Die NT-proBNP-Mittelwerte lagen zwischen 174 und 1726 pg/ml, im Mittel 628 ± 464 pg/ml.
- Es wurden 6 Patienten untersucht die 13 - 16 Jahre vor Studienbeginn transplantiert wurden. Die NT-proBNP-Mittelwerten lagen zwischen 153 und 2925 pg/ml, im Mittel 1018 ± 1129 pg/ml.

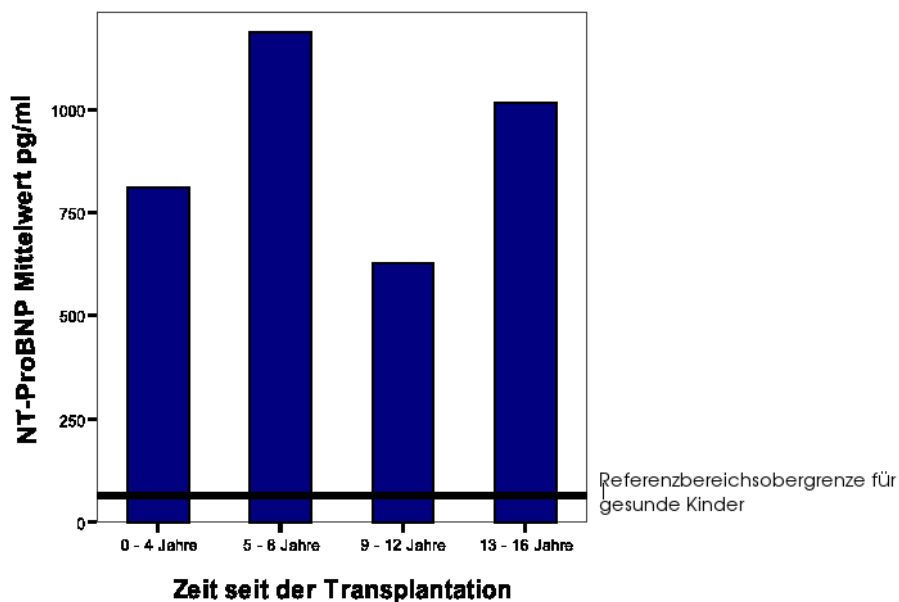


Abbildung 19: Mittelwerte von NT-proBNP bezogen auf die Zeit seit der Transplantation

Um den eventuellen Einfluss der Zeit seit der Transplantation auf die NT-proBNP-Werte genauer zu untersuchen, wurde eine Pearson Korrelation durchgeführt. Der Test ergab einen Wert von $-0,007$, dies erklärt weitaus weniger als 1% der Unterschiede. Eine Überprüfung auf die zweiseitige Signifikanz ergab 0,951, bei einer vordefinierten Signifikanz von 5%, konnte die Nullhypothese (NT-proBNP ist bei Kindern nach Herz-transplantation unabhängig von der Zeit nach der Transplantation) nicht verworfen werden. Es wurde keine Korrelation zwischen Zeit nach der Transplantation und NT-proBNP-Mittelwerte nach orthotoper Herztransplantation angenommen.

3.2.10 NT-proBNP-Werte transplantiertter Kinder in Abhängigkeit vom Geschlecht

Bei Kindern nach Herztransplantation konnte bei einer ersten Betrachtung nicht entschieden werden, ob ein Zusammenhang zwischen NT-proBNP und dem Geschlecht besteht. Die statistische Überprüfung erfolgte hier ebenfalls unter Zugrundlegung der Mittelwerten der einzelnen Patienten. Die Mittelwerte und Standardabweichungen der Patienten und Patientinnen sind in Tab. 4 dargestellt.

Tabelle 4: NT-proBNP-Werte transplantiertter Kinder in Abhängigkeit vom Geschlecht

	Anzahl	NT-proBNP-Mittelwert	Standardabweichung
Patientinnen	28	746,45 pg/ml	542,63 pg/ml
Patienten	54	998,92 pg/ml	1006,49 pg/ml

Auf den ersten Blick scheinen die NT-proBNP-Werte der männlichen Patienten etwas höher. Die weitere statistische Untersuchung, des evtl. Einflusses des Geschlechts auf die NT-proBNP-Mittelwerte bei den Patienten nach Herztransplantation wurde mittels unabhängigem t-Test durchgeführt. Bei der Überprüfung auf Gleichheit der Gruppen ergab der t-Test mit 80 Freiheitsgraden einen Wert von $-1,235$; dieses entspricht einer zweiseitigen Signifikanz von $0,183$, welche deutlich die 5% Grenze überschreitet. Somit wird die Nullhypothese (die zwei Gruppen stammen aus einer Grundgesamtheit) nicht verworfen. Es wird keine Abhängigkeit der NT-proBNP-Mittelwerte vom Geschlecht nach orthotoper Herztransplantation angenommen.

3.2.11 Vergleich von BNP und NT-proBNP-Werten bei herztransplantierten Patienten

Eine lineare Regression mit BNP als abhängige Variable und NT-proBNP als unabhängige Variable beschreibt die Abhängigkeit dieser beiden Werte voneinander. Diese Untersuchung ergab bei den Patienten nach orthotoper Herztransplantation einen R-quadrat von $0,739$. Dies bedeutet, dass hier schon ca. 74% der Varianz von BNP mit Hilfe der NT-proBNP-Werten vorhergesagt werden kann (s. Abb. 20.)

Um die Variabilität dieser beider Parameter vergleichen zu können wurden Variationskoeffizienten bestimmt; bei BNP lag der Varianzkoeffizient bei 62% und bei NT-proBNP bei 96%. Die Korrelation der BNP- und NT-proBNP-Werte bei den Patienten ist stärker als die bei den gesunden Kindern; weiterhin scheint eine größere Varianz der Werte beim NT-proBNP vorzuliegen. Die Relation von BNP zu NT-proBNP bei gesunden Kindern $\frac{10}{66} \sim \frac{1}{6,6}$ bei herztransplantierten Kinder ist die Relation zum NT-proBNP hin verschoben $\frac{88}{912} \sim \frac{1}{10,3}$.

3.3 Nierenfunktion und natriuretische Peptide

Die Nierenfunktion wurde mittels Bestimmung der Kreatinin-Clearance bei 25 der herztransplantierten Patienten beurteilt. Im Mittel lag die Kreatinin-Clearance der Patienten bei $42 \text{ ml/min} \pm$

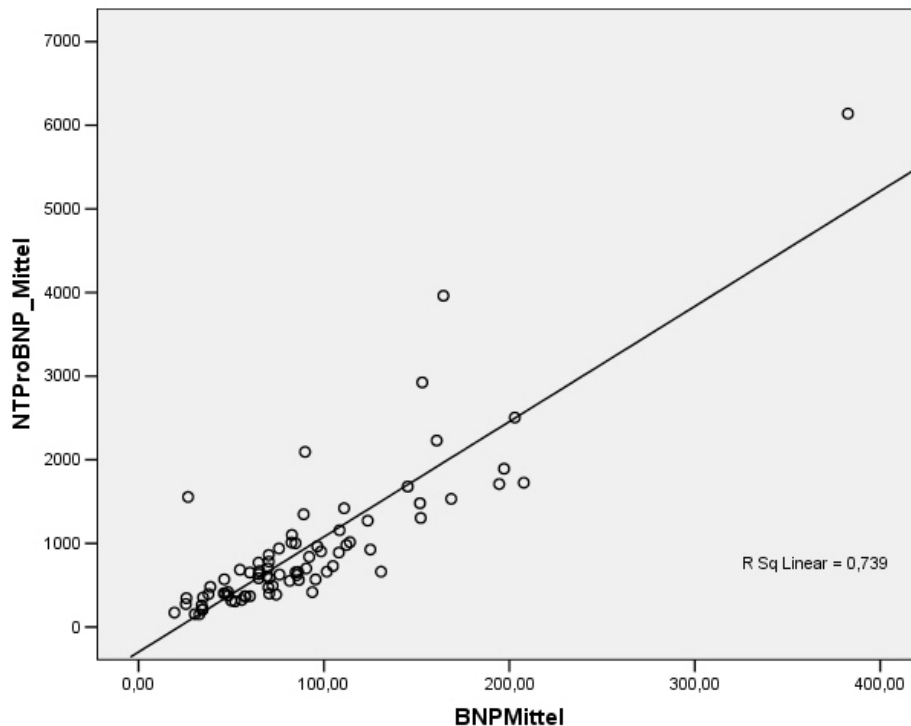


Abbildung 20: Lineare Regression von BNP in Abhängigkeit von NT-proBNP bei herztransplantierten Kindern

18ml/min (von 16 bis 87 ml/min), korrigiert auf eine Körperoberfläche von 1,73 qm. Bei gesunden Kindern, älter als 3 Jahre werden Werte von ca. 100 ml/min beobachtet [9].

BNP-Werte herztransplantierter Patienten in Abhängigkeit von der Kreatinin-Clearance

Um den Zusammenhang zwischen BNP und der Nierenfunktion zu untersuchen, wurde eine Pearson Korrelation zwischen den individuellen Mittelwerten der Kreatinin-Clearance und denen der BNP-Messungen durchgeführt. Der Vergleich wurde bei 25 Patienten aus der Gruppe der herztransplantierten Kinder durchgeführt und ergab einen R Wert von $-0,186$, dies entspricht einer zweiseitigen Signifikanz von $0,373$, somit kann die Nullhypothese (es besteht kein Zusammenhang zwischen BNP und der Nierenfunktion bei herztransplantierten Patienten) nicht verworfen werden. Es wurde kein Zusammenhang zwischen der Nierenfunktion (repräsentiert durch die Kreatinin-Clearance) und den BNP-Werten bei herztransplantierten Kindern angenommen.

NT-proBNP-Werte herztransplantierter Patienten in Abhängigkeit von der Kreatinin-Clearance

Der Zusammenhang zwischen NT-proBNP und der Nierenfunktion, wurde ebenfalls mittels Pearson Korrelation zwischen den individuellen Mittelwerten der Kreatinin-Clearance und denen der NT-proBNP Messungen durchgeführt. Auch hier konnten 25 Wertepaare in die Erhebung eingehen, die Korrelation ergab einen R Wert von -0,342, das entspricht einer zweiseitigen Signifikanz von 0,094. Somit konnte die Nullhypothese, dass kein Zusammenhang zwischen dem NT-proBNP-Wert und der Nierenfunktion besteht, auch hier nicht verworfen werden. Es wurde kein Zusammenhang zwischen der Nierenfunktion (repräsentiert durch die Kreatinin-Clearance) und den NT-proBNP-Werten bei herztransplantierten Kindern angenommen.

Einfluss der Nierenfunktion auf das Verhältnis von NT-proBNP zu BNP

Es wurde aus jeder Patientenprobe der Quotient NT-proBNP / BNP gebildet; aus diesen Werten wurde für jeden Patienten der Mittelwert seiner Quotienten gebildet und dieser wurde mit dem individuellen Mittelwert der Kreatinin-Clearance verglichen. Das Verhalten dieser zwei Werte im Vergleich ist in Abbildung 21 dargestellt.

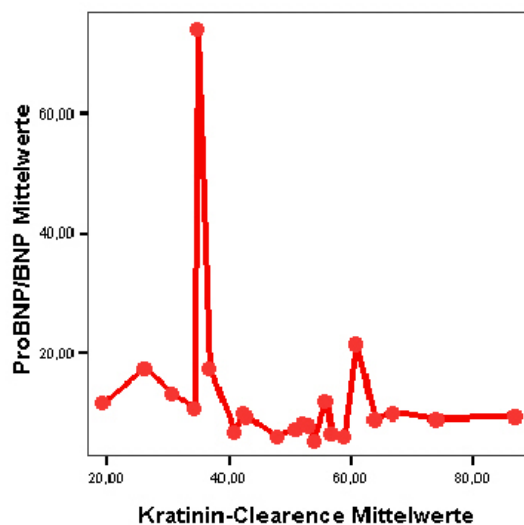


Abbildung 21: Quotient aus NT-proBNP und BNP als Funktion der Kreatinin-Clearance

Um genauer zu untersuchen, ob die Nierenfunktion mit diesem Quotienten zusammenhängt wurde eine Pearson Korrelation durchgeführt. Der R Wert ergab einen Wert von -0,286, es

entspricht einer zweiseitigen Signifikanz von 0,165. Da dieser Wert die 5% Signifikanzschwelle überschritt, konnte die Nullhypothese, dass kein Zusammenhang zwischen diesen Parametern besteht, nicht verworfen werden. Es wurde daher kein signifikanter Unterschied angenommen.

3.4 Zusammenhang zwischen BNP und klinischer Verschlechterung

Die klinische Verschlechterung wurde erfasst und als Ereignis (Event) klassifiziert, wenn eines der folgenden Kriterien erfüllt war:

- Neues Auftreten einer akuten oder chronischen Erkrankung, welche einer medizinischen Behandlung bedarf
- Verschlechterung einer vorhandenen Erkrankung, welche eines Überdenkens des Therapieplans bedarf

Die Untersuchungen auf Zusammenhänge erfolgte unter folgenden Fragestellungen:

1. Wie war das Verhalten von BNP während eines Events?
2. Gab die Risikoeinteilung nach dem ersten BNP-Wert ein Hinweis auf das spätere Event?
3. Standen der BNP-Mittelwert und der klinischer Zustand in einem Zusammenhang zueinander?
4. Deuteten schwankende BNP-Werte auf einen instabilen klinischen Zustand des Patienten hin?

3.4.1 Das Verhalten von BNP während eines Events

Da die Ausgangswerte der Patienten sehr unterschiedlich waren, schien es sinnvoller, anstelle des absoluten BNP-Wertes die prozentuale Abweichung unter dem Event vom individuellen Mittelwert als Marker heranzuziehen. Dabei wurden im ersten Schritt alle 42 Events berücksichtigt; im nächsten Schritt wurden nur diejenige BNP-Werte berücksichtigt die bei Transplantat-Abstoßungen bzw. bei dem Verdacht auf Abstoßung erhoben wurden.

Bei der Untersuchung aller Events, mussten BNP-Werte bei zwei Patienten mit neu aufgetretener PTLD (Post-transplant lymphoproliferative disorder) ausgeschlossen werden, da die Anstiege um 500-700% wahrscheinlich auf die Natur der Pathophysiologie, mit dem bei PTLD auftretenden Zytokinsturm zurückzuführen sind. Während der PTLD Manifestation wurde bei beiden Patienten eine gute echokardiographische Funktion beschrieben.

Bei den restlichen 40 Events lagen die Veränderungen des BNP-Spiegels zwischen -67% und $+137\%$ unter bzw. über dem Mittelwert, im Mittel lag die Abweichung vom Mittelwert des Patienten bei $+2\%$ (s. Abb. 22).

Ein signifikanter BNP Anstieg kann demzufolge bei klinischer Verschlechterung nicht regelmäßig erwartet werden.

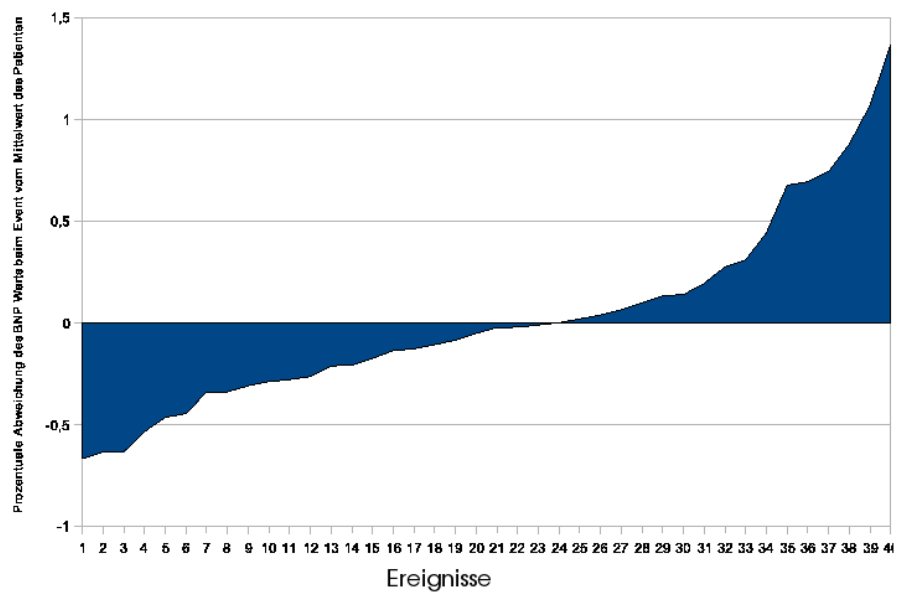


Abbildung 22: Prozentuale Abweichung des BNP-Wertes beim Event vom Mittelwert des Patienten

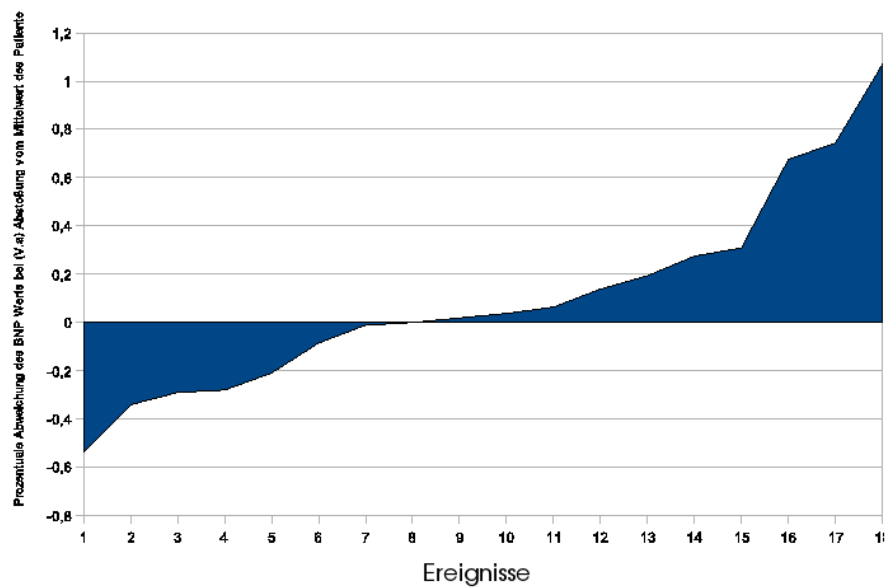


Abbildung 23: Prozentuale Abweichung des BNP-Wertes bei einer Abstoßungsreaktion bzw. beim Verdacht auf Abstoßung, vom Mittelwert des Patienten

Die Diagnosestellung bei einer Abstoßungsreaktion des Transplantats ist schwierig. In 18 Fällen von Abstoßung bzw. dem V.a. Abstoßung lag die mittlere prozentuale Veränderung vom individuellen Mittelwert bei +10% (s. Abb. 23).

Ein BNP-Spiegel ist daher auch für die Abstoßung des kardialen Transplantats kein zuverlässiger Indikator.

3.4.2 Risikoeinteilung nach dem ersten BNP-Wert

Anhand des ersten erhobenen BNP-Werts jedes Patienten wurden die Patienten in zwei Gruppen eingeteilt. Als cutoff Wert wurde die diagnostische Grenze für die Herzinsuffizienz bei Erwachsenen (100 pg/ml [79]) gewählt. Im Anschluß wurde die Zeit bis zum Auftreten eines Ereignisses untersucht und zwischen diesen 2 Gruppen verglichen. Um sicher zu gehen, dass dieser erste Wert auch eine Aussage über den Verlauf zulässt, wurde der erste Wert der Patienten mit dem Mittelwert aller BNP-Werte des individuellen Patienten verglichen. Die Korrelation erfolgte mittels des Pearson Tests für die zwei Gruppen getrennt.

Erster BNP unter oder gleich 100 pg/ml Korrelationskoeffizient ergab 0,668, damit werden 45% der Unterschiede erklärt. Eine anschließende Überprüfung auf zweiseitige Signifikanz ergab 0,000; dies liegt weit unter der vordefinierten Signifikanz von 5%, damit kann die Nullhypothese (dass kein Zusammenhang zwischen diesen beiden Werten besteht) verworfen werden. Damit kann der erste BNP-Wert in der Gruppe unter oder gleich 100 pg/ml als Verlaufsindikator angewendet werden.

Erster BNP über 100 pg/ml Der Korrelationskoeffizient ergab 0,475, damit werden 23% der Unterschiede erklärt. Eine anschließende Überprüfung auf zweiseitige Signifikanz ergab 0,009, dies liegt unter der vordefinierten Signifikanz von 5%, damit kann die Nullhypothese (dass kein Zusammenhang zwischen diesen beiden Werten besteht) verworfen werden. Damit kann der erste BNP-Wert in der Gruppe über 100 pg/ml ebenfalls als Verlaufsindikator angewendet werden.

Die Darstellung der ereignisfreien Überlebenszeit der zwei Gruppen (Abb. 24) zeigt eindrucksvoll den risikoreicheren klinischen Verlauf der Gruppe mit Anfangswerte über 100 pg/ml.

1 Jahr Ereignisfreies Überleben In der Gruppe mit dem Anfangswert von $\text{BNP} \leq 100 \text{ pg/ml}$ überlebten 44 von 54 Patienten das erste Jahr der Beobachtungszeit ereignisfrei; dies entspricht 81,5% der Gruppe. In der Gruppe mit dem Anfangswert von $\text{BNP} > 100 \text{ pg/ml}$ überlebten 19 von 29 Patienten das erste Jahr der Beobachtungszeit ereignisfrei, dies entspricht 65,5% der Gruppe.

Ereignisfreies Überleben in der Beobachtungszeit In der Gruppe mit dem Anfangswert von $\text{BNP} \leq 100 \text{ pg/ml}$ überlebten 42 von 54 Patienten die Beobachtungszeit von 17 Monaten ereignisfrei, dies entspricht 77,8% der Gruppe. In der Gruppe mit dem Anfangswert von $\text{BNP} > 100 \text{ pg/ml}$ überlebten 14 von 29 Patienten die Beobachtungszeit ereignisfrei, dies entspricht 48,3% der Gruppe.

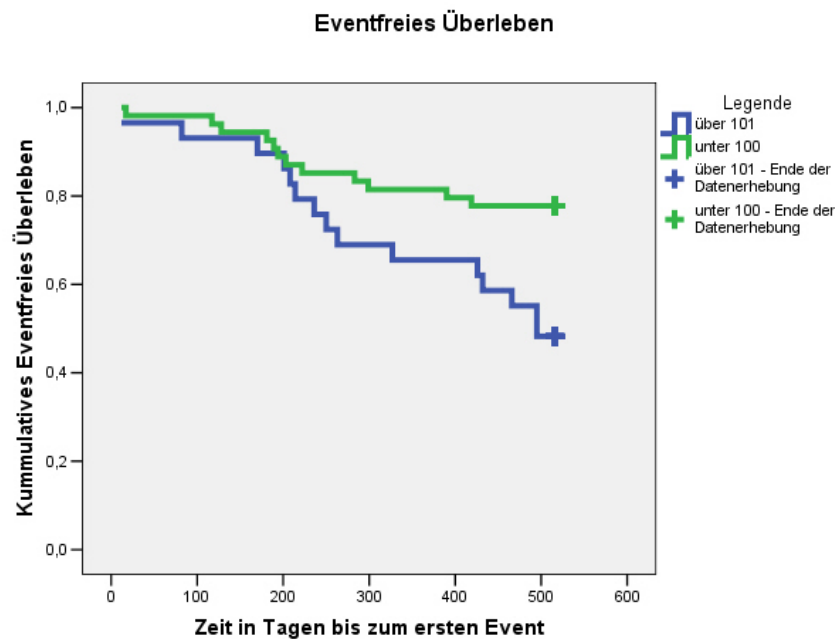


Abbildung 24: Darstellung des Event freien Überleben in den Gruppen getrennt durch den initialen cutoff Wert von BNP = 100 pg/ml

3.4.3 Zusammenhang zwischen Häufigkeit von Events und BNP-Wert

Die Patienten wurden nach der Häufigkeit der insgesamt aufgetretenen kardiale und nicht-kardiale Events in Gruppen eingeteilt und die dazu gehörigen BNP-Mittelwerte verglichen. Bei 31 der 83 Patienten traten zwischen ein und vier Events auf, wobei die Patienten ohne Event, die Patienten mit einem Event und diejenige mit zwei bis vier Events jeweils in eine Gruppe zusammengefasst wurden (Abb. 25)

- 52 der Patienten blieben während der gesamten Überwachungszeit Event-frei, bei diesen Patienten lag der BNP-Mittelwert im Durchschnitt bei 77 pg/ml.
- Bei 24 Patienten trat während dieser Zeit 1 Event auf, bei diesen Patienten lag der BNP-Mittelwert im Durchschnitt bei 97 pg/ml
- Bei den 7 Patienten bei denen 2-4 Events während der Überwachungszeit auftraten, lag der BNP-Mittelwert im Durchschnitt bei 139 pg/ml.

Eine durchgeführte Pearson Korrelation zwischen dem BNP-Mittelwert der Patienten und der Anzahl der von Ihnen erlittenen Events ergab 0,351, damit werden 12,3% der Unterschiede erklärt. Eine anschließende Überprüfung auf Signifikanz ergab 0,001; dies unterschritt die

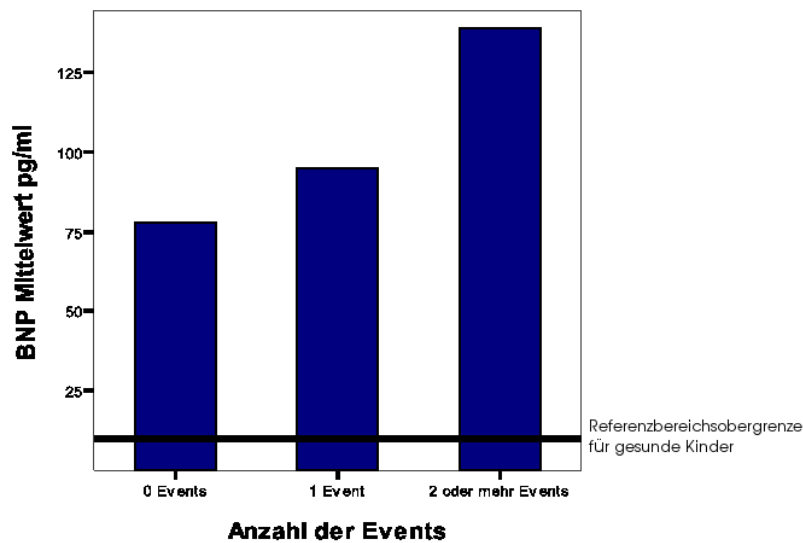


Abbildung 25: Mittelwerte der mittleren BNP-Werte eingeteilt nach der Anzahl der Events

festgelegte Signifikanzschwelle von 5%; somit konnte die Nullhypothese (es besteht kein Zusammenhang zwischen der Anzahl der Events und dem BNP-Mittelwert) verworfen werden. Es wurde eine Korrelation zwischen BNP-Mittelwert und Anzahl der Events angenommen. In einem weiteren Schritt wurden ferner die individuellen BNP-Mittelwerte der Patienten mit der Häufigkeit aufgetretene kardialen Events in Beziehung gesetzt.

- Bei 65 Patienten trat kein kardiales Event auf, der Durchschnitt der BNP-Mittelwerte lag in dieser Gruppe bei 84 pg/ml. Der Mittelwert der initialen BNP-Werte lag bei 87 pg/ml.
- Bei 16 Patienten trat nur 1 kardiales Event auf, der Durchschnitt der BNP-Mittelwerte lag in dieser Gruppe bei 95 pg/ml. Der Mittelwert der initialen BNP-Werte lag bei 113 pg/ml.
- Bei nur 2 Patienten traten mehr als 1 kardiales Event auf, hier lagen die Mittelwerte durchschnittlich bei 202 pg/ml. Der Mittelwert der initialen BNP-Werte lag bei 195 pg/ml.

Eine statistische Aussage ist hier wegen der sehr kleinen Fallzahl problematisch; eine graphische Darstellung erfolgt in Abb. 26.

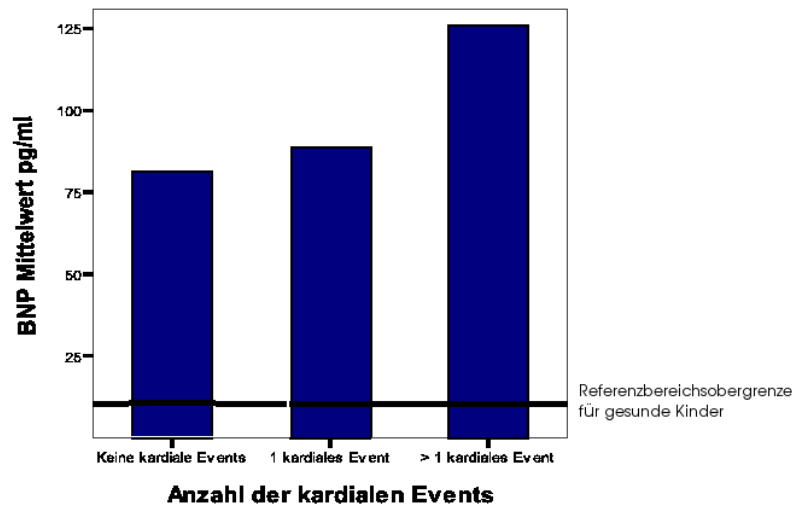


Abbildung 26: Mittelwerte der BNP-Werte eingeteilt nach der Anzahl der kardialen Events

3.5 Individuelle Variabilität der BNP-Werte herztransplantierter Patienten

Die Variabilität kann unter anderem auch als Standardabweichung ausgedrückt werden. Bei unseren Patienten zeigt sich eine Mittlere Standardabweichung der BNP-Werte des individuellen Patienten von 38 ± 35 pg/ml, wobei auch hier große Unterschiede zwischen der Gruppe mit erstem BNP bis 100 und der mit erstem BNP über 100 zu finden sind.

- In der Gruppe mit erstem BNP-Wert ≤ 100 pg/ml lag die Standardabweichung bei 26 ± 28 pg/ml.
- In der Gruppe mit erstem BNP-Werte > 101 pg/ml lag die Standardabweichung bei 60 ± 36 pg/ml.

Der statistische Vergleich dieser Daten erfolgte mittels t-Test für unabhängige Stichproben; dieser ergab mit 75 Freiheitsgraden einen Wert von 4,6. Die anschließende Überprüfung auf zweiseitige Signifikanz ergab 0,000. Dieser Wert liegt deutlich unter der vordefinierten 5% Signifikanzschwelle. Die Nullhypothese (beide Gruppen stammen aus der selben Grundgesamtheit) konnte somit abgelehnt werden; ein signifikanter Zusammenhang der Standardabweichung mit der Zugehörigkeit in die Gruppe mit initialen BNP-Werten ≤ 100 pg/ml bzw. > 100 pg/ml kann angenommen werden (s. Abb. 27).

Die relative Streuung liegt in beiden Gruppen bei ca. 50% des Mittelwerts.

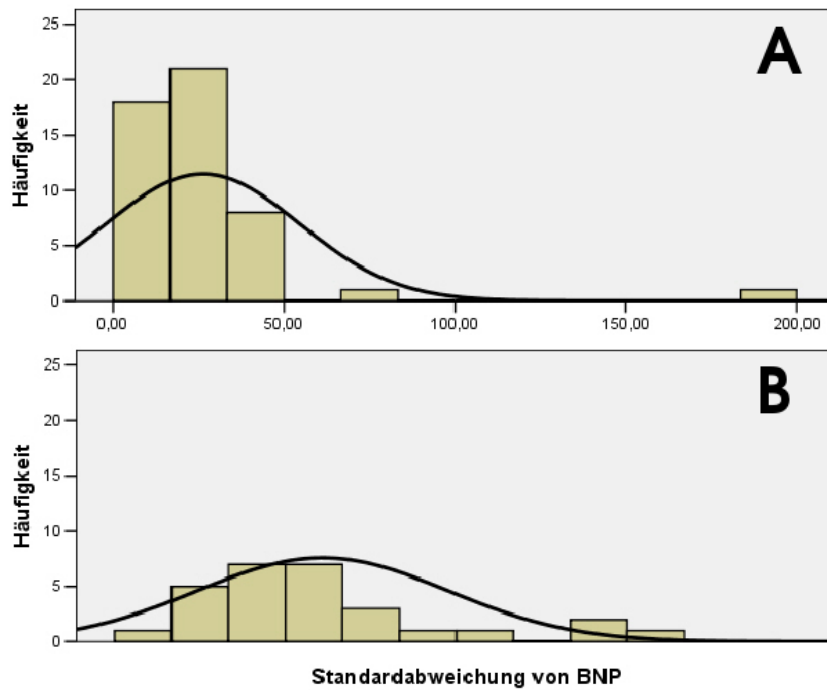


Abbildung 27: Standardabweichungen der beiden Gruppen (A) BNP initial $\leq 100pg/ml$ (B) BNP initial $> 100pg/ml$

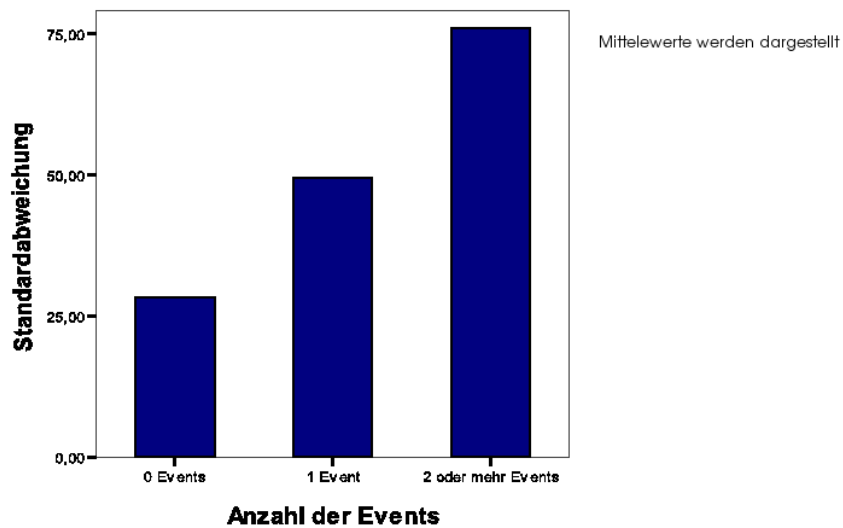


Abbildung 28: Mittlere Standardabweichung nach der Anzahl der Events

3.5.1 Zusammenhang zwischen Variabilität und Events

Eine Pearson Korrelation zwischen den BNP-Mittelwerten der Patienten und deren Standardabweichungen ergab einen Wert von 0,4. Damit werden 16% der Unterschiede erklärt. Die Überprüfung auf zweiseitige Signifikanz ergibt 0,000, die vordefinierte 5% Signifikanzschwelle ist unterschritten und die Annahme, dass kein Zusammenhang zwischen dem Mittelwert und der Standardabweichung besteht ist damit widerlegt (s. Abb. 28). Es werden bei häufigeren Ereignissen höhere Mittelwerte und damit auch höhere Standardabweichungen beobachtet.

4 Diskussion

Es finden immer mehr erfolgreiche Herztransplantationen bei Kindern statt, auch die Überlebenszeit nach einer solchen Transplantation nimmt ständig zu.

Die Frage nach nicht invasiven Überwachungsmethoden wird somit häufiger gestellt. Diese Arbeit beschäftigt sich mit der Eignung von BNP und NT-proBNP im Blutplasma als nicht-invasive Marker in der Überwachung von Patienten nach pädiatrischer Herztransplantation. Um die Aussagekraft dieser Marker untersuchen zu können, wurde zusätzlich zu den Patienten auch ein Kollektiv gesunder Kinder untersucht, um für die angewandten Untersuchungs- und Messbedingungen, Referenzwerte von BNP und NT-proBNP im Kindesalter zu etablieren. Bei den Patienten nach pädiatrischer Herztransplantation wurden BNP und NT-proBNP mehrfach bestimmt und ihre Korrelation zur klinischen Symptomatik untersucht. Diese Studie berücksichtigt sowohl das BNP als auch das NT-proBNP, während die meisten anderen Studien zum Thema jeweils nur einen der beiden Parameter berücksichtigten [6, 34, 48, 77, 21, 29, 28]. Zusätzlich untersucht diese Studie den Vorhersagewert von BNP für den klinischen Verlauf und nicht nur die Sensitivität als Marker für eine Abstoßung [21, 29, 77, 34]. Eine ähnliche Arbeit zur prognostischen Aussage von BNP wurde von Inuzuka et al. bei Kindern mit univentrikulärer Zirkulation durchgeführt [38]

4.1 Referenzwerte der natriuretischen Peptide bei Kindern

Die Erhebung von BNP- und NT-proBNP-Werten bei Kindern ohne vorbekannten Erkrankungen diene als Referenz für die Interpretation der Werte der Patienten nach pädiatrischer Herztransplantation.

Bei gesunden Erwachsenen wurden Einflüsse vom Alter und vom Geschlecht auf BNP-Werte beschrieben [50, 70], daher wurden Untersuchungen auf diese Einflüsse auch in dem Kollektiv der gesunden Kinder durchgeführt. Weiterhin wurde der Zusammenhang zwischen BNP und NT-proBNP untersucht, die äquimolar freigesetzt werden sich jedoch hinsichtlich ihrer biologischen Wirkung sowie dem Abbauweg und damit vor allem in der Halbwertszeit unterscheiden. Da im klinischen Alltag BNP bei Kindern bisher besser etabliert ist [45], wurde die Priorität auf die Aussagefähigkeit des BNP-Wertes gelegt, so dass in den sechs Proben, in denen das Material nur für eine Bestimmung ausreichte, nur BNP bestimmt wurde.

4.1.1 BNP

Normwerte in der Kindheit wurden in wenigen Studien untersucht und auf das Alter bzw. das Geschlecht bezogen. Vor allem aufgrund von unterschiedlich definierten Kollektiven wurden jeweils andere Werte in diesen Studien ermittelt. Bei Kindern jenseits der Neonatalperiode wurden von Koch et al. Mittelwerte von 7 bis 10 pg/ml abhängig vom Geschlecht beschrieben [44]. Passend zu diesen Werten wurde in der vorliegenden Studie der Mittelwert der BNP-Werten bei gesunden Kindern jenseits der Neonatalzeit mit 10 pg/ml ermittelt. Das et al. beschrieben, dass 90% der jungen und gesunden Erwachsenen BNP-Werte unter 25 pg/ml aufweisen [18]. In der vorliegenden Studie weisen die BNP-Werte aller untersuchten gesunden Kindern eine asymmetrische linkssteile Verteilung auf, es zeigen sich Werte zwischen 0 und

50 pg/ml, wobei 50% der Probanden einen Wert zwischen 0 und 8 pg/ml aufweisen. Der Modus wurde mit 3 pg/ml berechnet; somit ist dies der wahrscheinlichste BNP-Wert bei einem gesunden Kind. Die graphische Darstellung mittels Polygon (Abb. 5) verdeutlicht dies.

4.1.2 NT-proBNP

Die Normwerte von NT-proBNP bei Kindern unterscheiden sich in unterschiedlichen Studien und werden auf das Alter und das Geschlecht bezogen angegeben. Mehrheitlich wird bei 90% der jungen und gesunden Erwachsenen NT-proBNP-Werte von 70 pg/ml oder darunter beschrieben [18]. In der vorliegenden Studie weisen die NT-proBNP-Werte im Kollektiv der gesunden Kinder ebenfalls eine asymmetrische linkssteile Verteilung auf; diese ist in Abbildung 7 auf Seite 29 dargestellt. Die NT-proBNP-Werte lagen zwischen 5,52 und 253 pg/ml, im Mittel bei 66,41 pg/ml. Wie bei den BNP-Werten sind auch beim NT-proBNP niedrigere Werte häufiger. Das allgemein höhere Niveau von NT-proBNP liegt vermutlich an dessen langsamerer Elimination [24, 60, 73]. NT-proBNP hat mit 1-2 Stunden eine längere Halbwertszeit als BNP, da es vor allem über die Niere ausgeschieden wird und nicht über Rezeptoren internalisiert und anschließend abgebaut wird [70, 54]. Die Abhängigkeit des NT-proBNP-Wertes von der Nierenfunktion wird in der Diagnostik oft zum Problem, da bei eingeschränkter Nierenfunktion eine Aussage über die Produktion und Freisetzung von NT-proBNP, und damit über die kardiale Belastung nicht zuverlässig ist [50, 70, 47, 27, 82, 46].

4.1.3 Einfluss des Lebensalters

Die Frage nach dem Einfluss des Lebensalters auf den BNP- bzw. NT-proBNP-Wert bei gesunden Kindern kann für die Beurteilung dieser Werte bei Patienten nach pädiatrischer Herztransplantation von großer Bedeutung sein. In der Literatur finden sich einige Hinweise auf sehr hohe BNP- und NT-proBNP-Werte bei Neugeborenen, welche in den ersten Lebenswochen deutlich abfallen [44, 61, 24]. Bei Kindern jenseits der Neonatalzeit beobachteten Koch et al. und Mir et al. dagegen keine signifikante Korrelation der BNP-Werte mit dem Alter [44, 59]. In der vorliegenden Studie wurden Kinder jenseits der Neonatalzeit untersucht und es konnte ebenfalls keine Korrelation von BNP mit dem Lebensalter bei gesunden Kindern nachgewiesen werden (Abb. 6), so dass die Ergebnisse der vorliegenden Studie diese Befunde zum fehlenden Einfluss des Alters auf den BNP-Wert bei gesunden Kindern jenseits der Neonatalzeit bestätigen. In der Literatur wird auch bei NT-proBNP eine inverse Korrelation mit dem Alter beschrieben; wie bei BNP werden die höchsten Werte in den ersten Lebenstagen berichtet [61]. Nach der Neonatalzeit werden im Gegensatz zu BNP für NT-proBNP altersabhängige Werte beschrieben. Mir et al. beschreiben abfallende BNP-Werte mit steigendem Alter [60]. Nir et al. beschreiben jenseits der Neonatalperiode einen milden allmählichen Abfall der NT-proBNP-Werte [61]. El-Khuffash et al. und Rauh et al. beschreiben ebenfalls einen graduellen Abfall der NT-proBNP-Werte im Kindesalter und beziehen Stellung zum fehlendem Abfall von BNP. Sie führen den abfallenden NT-proBNP/BNP Quotienten auf unterschiedliche Clearance-Mechanismen dieser Peptide zurück, welche vom Alter des Kindes abhängen [24, 73]. Die Clearance von NT-proBNP erfolgt vor allem in der Niere. Die Glo-

meruläre Filtrationsrate beträgt beim Neugeborenen 10% der Filtrationsrate von Erwachsenen, verdoppelt sich in den ersten zwei Lebenswochen und erreicht über einen allmählichen Anstieg Erwachsenenwerte mit Abschluss des zweiten Lebensjahres [7]. Diese geringe glomeruläre Filtrationsrate im frühen Kindesalter kann eventuell die hohen Werte in der frühen Kindheit erklären. Der weitere Abfall bis zur Pubertät findet hier jedoch keine ausreichende Erklärung. In der vorliegenden Studie wurde die Korrelation von NT-proBNP und dem Alter der Kinder in zwei Schritten gezeigt. Im ersten Schritt wurden die Untersuchungsobjekte nach deren Alter in vier Gruppen eingeteilt und die Mittelwerte dieser Gruppen verglichen. Es wird deutlich, dass sich die Gruppenmittelwerte voneinander unterscheiden, mit einem klaren Trend zu niedrigeren Werten bei älteren Kindern. Im zweiten Schritt wurde eine Korrelation mit Hilfe des Pearson-Test durchgeführt, dieser ergab mit $-0,523$ und einer zweiseitigen Signifikanz von ca. 1%. In der vorliegenden Studie wird somit der bereits früher bei Kindern beschriebene Einfluss des Lebensalters auf den NT-proBNP-Wert bestätigt. Bei zunehmendem Alter nimmt die NT-proBNP Konzentration im Kindesalter ab. Zum Teil kann dieses Phänomen durch die Entwicklung der Nierenfunktion in der postneonatalen Phase erklärt werden; eine Erklärung für den weiteren Abfall nach dem vollendeten zweiten Lebensjahr (vollständig entwickelte glomeruläre Filtrationsrate [9]) liegt noch nicht vor.

4.1.4 Einfluss des Geschlechts

Koch et al. [44] zeigten signifikant höhere BNP-Werte bei über 10 jährigen Mädchen als bei gleichaltrigen Jungen (12.1 ± 9.6 versus 5.1 ± 3.5 pg/ml). Sie untersuchten genauer und zeigten den Einfluss des Eintritts der Pubertät (eingeteilt nach Tanner-Stadien) bei Mädchen auf den BNP-Wert, nicht jedoch bei Jungen, Pervainidou et al. zeigten leicht höhere NT-proBNP-Werte bei Mädchen als bei Jungen in der Pubertät [68]. Bei präpubertären Kindern zeigten Pervainidou et al. kein Einfluss des Geschlechts auf die NT-proBNP-Werte. [68] Die statistische Analyse eines möglichen Zusammenhangs zwischen BNP bzw. NT-proBNP und dem Geschlecht der gesunden Probanden zeigte in der vorliegenden Studie keine signifikante Korrelation. Diese fehlende Korrelation kann eventuell auf die kleine Stichprobe der pubertären Mädchen zurückgeführt werden. Der Eintritt der Pubertät (klassifiziert durch Tanner-Stadien) wurde in dieser Studie nicht berücksichtigt.

4.1.5 Der Zusammenhang zwischen BNP und NT-proBNP

Aus der Literatur [50, 70] ist bekannt, dass die Herstellung und Freisetzung von BNP und NT-proBNP äquimolar erfolgt. Es kommt zu einer proteolytischen Spaltung von ProBNP in BNP und NT-proBNP durch die transmembranäre Serineprotease Corin in der Membran von Kardiomyozyten [51]. Die im Blut gemessenen Werte sind ein Produkt der Freisetzung und der Clearance; da die Freisetzung äquimolar erfolgt, ist der Unterschied zwischen beiden Peptiden im Serum von deren Clearance abhängig. BNP und NT-proBNP werden gleichermaßen von der Niere glomerulär filtriert und eliminiert; BNP wird ferner von den Natriuretischen-Peptid-Rezeptoren und von der neutralen Zink-Peptidase abgebaut [50, 70, 47, 27]. Weitere Clearance Mechanismen von NT-proBNP sind noch nicht geklärt. Ebenfalls noch nicht ab-

schließlich geklärt ist, warum NT-proBNP bei Niereninsuffizienz stärker ansteigt [64, 75, 82]. In der Literatur wird beschrieben, dass die Relation von NT-proBNP zu BNP bei Kindern mit zunehmendem Alter abnimmt. Dieser Befund wird ebenfalls auf die unterschiedlichen Clearance Mechanismen dieser zwei Peptide zurückgeführt [24, 73]. Der Zusammenhang zwischen der Konzentration beider Peptiden im Serum bzw. Plasma wurde mittels linearer Regression untersucht. In der vorliegenden Studie konnte nur ein schwacher Zusammenhang bei gesunden Kindern gezeigt werden (Abb. 9), der Zusammenhang zwischen BNP und NT-proBNP war bei herztransplantierten Kindern stärker (Abb.20). In der vorliegenden Studie zeigt sich kein linearer Zusammenhang zwischen BNP und NT-proBNP bei gesunden Kindern. Die Relation NT-proBNP zu BNP nimmt in der vorliegenden Studie bei höheren Werten geringfügig zu. Ähnlich wird dies bei Kroll et al. [46] beschrieben, dort wird dies durch die renale Elimination von BNP und NT-proBNP bei niedrigen Werten und zusätzliche nicht renale Elimination von BNP aber nicht NT-proBNP bei höheren Konzentrationen erklärt [46]. Auch kommt die größere Unpräzision der Messung bei niedrigeren Werten als Ursache für die unterschiedliche Korrelation bei gesunden und herztransplantierten Kindern in Betracht. Im Kindesalter ist BNP unter kardiologischen Gesichtspunkten diagnostisch wertvoller als NT-proBNP, da es sich zum einen um das aktive Hormon handelt, zum anderen sind BNP-Werte im Kindesalter, nach der Neonatalzeit, deutlich stabiler als NT-proBNP-Werte und weniger von renalen Einflüssen abhängig [45].

4.1.6 Zusammenfassung Referenzwerte

Die Erhebung der BNP-Werte bei gesunden Kindern diene vor allem als Grundlage für die Beurteilung der Werte von Patienten nach pädiatrischer Herztransplantation. 95% der bei gesunden Kindern erhobenen BNP-Werte lagen zwischen 0 und 36 pg/ml, wobei niedrige Werte dominierten; es konnte kein Einfluss von Alter oder Geschlecht auf die BNP-Werte nachgewiesen werden. Bei NT-proBNP dominierten ebenfalls die niedrigeren Werte unterhalb des Mittelwert des Kollektivs von 66,4 pg/ml; bei gesunden Kindern zeigte sich eine inverse Korrelation mit dem Alter, das Geschlecht hatte keinen Einfluss auf die NT-proBNP-Werte bei gesunden Kindern.

4.2 Natriuretische Peptide nach pädiatrischer Herztransplantation

4.2.1 BNP-Werte bei herztransplantierten Kindern

In der Vergangenheit wurden BNP-Werte nach einer Herztransplantation überwiegend bei Erwachsenen als Mittelwerte serieller Messungen über einen längeren Zeitraum beschrieben [66, 35, 4, 43] und waren in den meisten Studien deutlich erhöht im Vergleich zu Werten von herzgesunden Probanden. Der Mittelwert der BNP-Werte in der vorliegenden Arbeit wurde aus den Mittelwerten aus mehreren BNP-Bestimmungen der einzelnen herztransplantierten Patienten bestimmt; auf diese Weise fallen Werte, die stark von der Norm abweichen, weniger ins Gewicht. Der so ermittelte Mittelwert beträgt 88 pg/ml und liegt damit deutlich tiefer als die vorbeschriebenen Mittelwerte bei Erwachsenen Patienten nach Herztransplantation [66, 35].

Lan et al. beobachteten auf der anderen Seite, einen Abfall der BNP-Werte nach pädiatrischer Herztransplantation bis auf < 100 pg/ml 14 Wochen nach der Transplantation [48]. Viele Studien beschreiben demgegenüber das Phänomen, dass das BNP, welches nach einer Transplantation erwartungsgemäß auf normale Werte absinken sollte, erhöht bleibt [77]. Für die Beschreibung der BNP-Werte ist nicht nur der Mittelwert von Interesse, auch die Form der Verteilung und die Streuung sind hier von großer Bedeutung. Die weiteren Berechnungen und graphische Darstellungen in der vorliegenden Arbeit basieren ebenfalls auf den Mittelwerten der einzelnen Patienten. Die Mittelwerte der Patienten werden durch eine asymmetrische linkssteile Verteilung beschrieben (Abb. 12). Auch in diesem Kollektiv sind niedrigere Werte häufiger, die Verteilung ähnelt der von gesunden Kindern, sie ist aber insgesamt nach rechts zu höheren Werten hin verschoben. Ein Vergleich der Werte dieses Kollektivs mit denen des gesunden Kollektivs beweist die Ungleichheit dieser beiden Kollektive, doch die Frage nach der Ursache für diese Ungleichheit ist noch nicht beantwortet.

4.2.2 NT-proBNP-Werte bei herztransplantierten Kindern

Avello et al. zeigten bei erwachsenen Patienten nach Herztransplantation erhöhte NT-proBNP-Werte im Vergleich zu bekannten Normwerten [6]. Die Verteilung der NT-proBNP-Werte herztransplanterter Kinder in der vorliegenden Studie wird ebenfalls durch eine asymmetrische linkssteile Verteilung beschrieben (Abb. 16). Auch hier wurde jeweils der Mittelwert des einzelnen Patienten für die Berechnungen des Mittelwerts des Kollektivs herangezogen. Der Vergleich zwischen den Normwerten und denen der Patienten zeigt einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen beiden Kollektiven (Abb. 17).

4.2.3 Ursache für Erhöhung der Natriuretischen Peptide im Serum nach Herztransplantation

Die Herztransplantation stellt die letzte Therapieoption bei einer ausgeprägten Herzinsuffizienz dar. Nach der Transplantation sollte die Herzinsuffizienz beseitigt sein und doch bleiben die BNP Werte erhöht [63, 77, 48, 30, 6, 28, 38]. Für das Phänomen der BNP- und NT-proBNP-Erhöhung bei Patienten nach Herztransplantation gibt es mehrere Erklärungsmöglichkeiten.

- Der Stress und die Ischämie des Spenderorgans wurden als Ursache diskutiert. allerdings zeigten O'Neill et al. bereits eine Woche nach der Transplantation keine Korrelation zwischen der Ischämiezeit und der Höhe des BNP-Werts [63], so dass dies nur eine kurzfristige Erhöhung von BNP und NT-proBNP erklären kann.
- Die Operation an sich und insbesondere die dabei durchgeführte Denervation des Herzens wurde ebenfalls häufiger als Ursache für die erhöhten BNP-Werten nach Transplantation diskutiert. Geny et al. untersuchten den Einfluss der Operation selbst über einen Vergleich von Patienten nach Koronarer Bypass Operation mit herztransplantierten Patienten. Sie bestätigten deutlich höhere BNP-Werte bei den Patienten nach Herztransplantation und fanden nur einen leichten Anstieg der Werte nach koronarer Bypass Operation mit vollständiger Normalisierung nach ca. einer Woche [30]. Das bedeutet,

dass eine Herztransplantation zu höheren BNP-Werten als eine andere schwere Herz OP führt.

- Häufig wird eine klinisch nicht detektierte “Graftdysfunktion“ als Ursache für erhöhte BNP und NT-proBNP-Werte diskutiert [6, 28, 38]
- In anderen Kollektiven wurde die Erhöhung der BNP-Werte durch medikamentöse Therapie mit β -Blockern oder auch Cortison in Zusammenhang gesehen [70, 54]; diese Medikamente werden auch bei Patienten nach pädiatrischer Herztransplantation häufig eingesetzt. Weiterhin wird die Immunsuppression v.a. durch Tacrolimus als Ursache für die Erhöhung der BNP-Werte diskutiert, da eine signifikante Erhöhung von BNP auch nach Lebertransplantation beobachtet wurde [80]. Weitere Untersuchungen sind nötig um den eventuellen Einfluss dieser Medikamente auf natriuretische Peptide bei anderen Krankheitsbildern zu klären.
- Shaw et al beschreiben ferner eine mögliche Rolle von BNP bei der Immunmodulation; sie zeigten eine Abnahme der Anzahl von Immunzellen bei höheren BNP Konzentrationen in vitro [78]. Erhöhte BNP-Werte werden bei bakterieller Sepsis, Myokardinfarkt, Apoplex und Verbrennung gefunden. Diesen Zuständen ist allen eine Aktivierung des Immunsystems gemeinsam [76]. Die Aktivierung des Immunsystems nach einer Herztransplantation kann somit auch als Ursache für die von der ventrikulären Pumpfunktion unabhängigen höheren BNP-Konzentration bei herztransplantierten Patienten gesehen werden.
- In der vorliegenden Studie wurden zwei Patienten mit PTLD (Post-transplant lymphoproliferative disorder) und sehr stark erhöhten BNP und NT-proBNP-Werten beobachtet. Dies stützt die Annahme einer immunogenen-Ursache, da die Werte beim Auftritt dieser immunologischen Erkrankung um 500-700% angestiegen sind.

In der vorliegenden Arbeit zeigten sich wie bereits in früheren Studien erhöhte BNP-Werte bei herztransplantierten Patienten, eine klare Ursache hierfür konnte bisher nicht ermittelt werden. Die außergewöhnlich hohen BNP-Werte bei Patienten mit PTLD könnten auf eine immunologisch bedingte Entzündung als Ursache für die starke Erhöhung des BNPs hinweisen, weitere Untersuchungen auf diesem Gebiet erscheinen notwendig. Mehrere Studien zeigen nach einer Herztransplantation eine Korrelationen zwischen BNP und kardio vaskulären Funktionsparametern. Mehra et al. beobachteten eine signifikante Korrelation zwischen dem BNP-Wert (Cutoff 250 pg/ml) und der LVEF nach Herztransplantation ($60 \pm 6\%$ gegen $48 \pm 18\%$) [58]. Hervas et al. beschrieben signifikante Unterschiede der BNP-Werte bei Patienten mit guter LVEF ($> 55\%$), mild bis moderat eingeschränkter LVEF ($35-55\%$) und deutlich eingeschränkter LVEF ($< 35\%$)[35]. Aranu-Vives et al. beobachteten signifikante Korrelationen von BNP-Werten mit erhöhten Drücken im kleinen Kreislauf [4]. Park et al. beobachteten einen signifikanten Unterschied der PCWP Werte; bei Patienten mit niedrigerem BNP (cutoff 150 pg/ml) lagen die Werte im Mittel bei 9 ± 4 mmHg, bei Patienten mit höheren BNP-Werten lagen die Werte im Mittel bei 13 ± 5 mmHg [66]. Patienten mit Koronarerkrankung (definiert über eine Einengung des Koronargefäßlumens $\geq 40\%$) hatten signifikant höhere BNP-Werte im Mittel 537 ± 198 pg/ml, gegen 226 ± 39 [58].

4.2.4 BNP und NT-proBNP im Vergleich

Das BNP ist bei den herztransplantierten Patienten im Vergleich zum gesunden Kollektiv um das 9-fache erhöht, das NT-proBNP hingegen ist bei herztransplantierten Kindern um das 14-fache höher im Vergleich zum gesunden Kollektiv. Diese stärkere Erhöhung des NT-proBNPs im Vergleich zu BNP könnte an erschöpften Clearance Mechanismen und an einer (leicht) eingeschränkten Nierenfunktion der herztransplantierten Patienten liegen. Bei Patienten nach pädiatrischer Herztransplantation verschlechtert sich die Nierenfunktion zunehmend mit der Zeit nach der Transplantation. Dies wird auf die immunsuppressive Therapie zurückgeführt [23]. Bei Herzgesunden wird der Unterschied der Halbwertszeiten von BNP und NT-proBNP (20 Minuten vs. 1-2 Stunden) mit der fast ausschließlichen Ausscheidung von NT-proBNP über die Niere begründet [50, 70]. Die Relation NT-proBNP zu BNP nimmt bei höheren Werten deutlich zu. Dieser Unterschied wird von Kroll et al. durch renale Elimination von BNP und NT-proBNP bei niedrigen Werten und zusätzliche nicht renale Elimination von BNP aber nicht von NT-proBNP bei höheren Konzentrationen erklärt [46]. Die postulierte Erschöpfung der renalen Clearance Kapazitäten wird in der Literatur auch durch die Beobachtung der stärkeren Korrelation von BNP mit der glomerulären Filtrationsrate bei Herzgesunden als bei Patienten mit Herzinsuffizienz [82] unterstützt.

4.2.5 Einfluss des Alters

Bei der Besprechung des Alters von Patienten nach Herztransplantation müssen das chronologische Alter des Patienten, das Alter des Spenders und die Zeit seit der Transplantation berücksichtigt werden.

Für das BNP wurde in der vorliegenden, wie in weiteren Studien [44, 59] kein Zusammenhang mit dem Alter bei gesunden Kindern nachgewiesen, so dass wir hier das Alter des Spenders außer Acht lassen. Auf den eventuellen Zusammenhang mit der Zeit seit der Transplantation wird später eingegangen. Ähnlich wie bei den gesunden Kindern wurde hier der eventuelle Zusammenhang von BNP und dem Lebensalter in zwei Schritten untersucht, zunächst wurden die Patienten in vier Altersgruppen unterteilt und die BNP Mittelwerte miteinander verglichen (s. Abb. 14). Es wird deutlich, dass sich die Gruppenmittelwerte nicht wesentlich von einander unterscheiden. Im zweiten Schritt wurde eine Korrelation mit Hilfe des Pearson-Tests durchgeführt; die Ergebnisse dieser Korrelation waren mit -0,053 und einer zweiseitigen Signifikanz von ca. 64% nicht signifikant, so dass kein Zusammenhang zwischen BNP und dem Lebensalter der Patienten angenommen werden kann. In der vorliegenden Studie wurde nur eine kleine Stichprobe von herztransplantierten Kindern über zwölf Jahre (zwölf Patienten) untersucht somit kann ein eventueller Einfluss des Alters auf die BNP-Werte bei älteren Kindern nicht ausgeschlossen werden. Koch et al. beschrieben einen Anstieg der BNP-Werten bei Kindern über zehn Jahre [44].

Für das NT-proBNP wird bei gesunden Kindern eine inverse Korrelation mit dem Lebensalter jenseits der Neonatalzeit beschrieben [60, 61]. Diese konnte in der vorliegenden Studie bestätigt werden. Zum Teil wird in der Literatur dieser Zusammenhang auf die Entwicklung der Nierenfunktion zurückgeführt [24, 73]. Bei Patienten nach pädiatrischer Herztransplantation ist die Nierenfunktion jedoch meist eingeschränkt, dies ist auf die immunsuppressive

Therapie zurückzuführen [23], so dass sich die Frage stellt ob bei diesen Kindern trotzdem eine Korrelation mit dem Alter besteht oder eher mit der Dauer seit der Transplantation. In der vorliegenden Studie wurde zunächst der Einfluss des Lebensalters der Patienten in zwei Schritten untersucht, die Patienten in vier Altersgruppen unterteilt und die NT-proBNP-Mittelwerte verglichen, diese sind in Abbildung 18 dargestellt. Im Gegensatz zu den Befunden bei gesunden Kindern kann hier kein Zusammenhang zwischen den NT-proBNP-Werten und dem Alter erkannt werden. Auch die Überprüfung mittels der Pearson-Korrelation ergab $-0,065$, dies entspricht einer zweiseitigen Signifikanz von 56%. Der bei gesunden Kindern vorliegender Zusammenhang zwischen den NT-proBNP-Werten und dem Alter, konnte bei den Patienten nach pädiatrischer Herztransplantation nicht gezeigt werden. Dieser fehlende Zusammenhang könnte auf das unterschiedliche Alter von Spender und Empfänger und auf die mit der Dauer der Immunsuppression zunehmend beeinträchtigte Nierenfunktion [23] dieser Patienten zurückzuführen sein.

4.2.6 Einfluss der Zeit seit der Transplantation

In dem Kollektiv der herztransplantierten Kindern wurden nicht nur Alter und Geschlecht als mögliche Einflussfaktoren untersucht sondern auch die Zeit, die seit der Transplantation vergangen ist. So beschreiben mehrere Studien [63, 4, 62, 41] zunächst einen Abfall von BNP nach der Transplantation. Die Transplantatvaskulopathie ist der wichtigste das Überleben eines Transplantats einschränkende Faktor bei Kindern [69, 10]. Die Prävalenz dieser wichtigen Erkrankung nimmt mit der Zeit zu, die nach der Transplantation vergeht. Fünf Jahre nach der Transplantation sind bereits bei 50% der Patienten angiographische Veränderungen vorhanden [14]. In der vorliegenden Studie wurde kein Zusammenhang zwischen BNP bzw. NT-proBNP und dem Lebensalter der herztransplantierten Patienten gefunden, so dass das Lebensalter hier nicht mehr berücksichtigt wird. Es wird daher nur die Zeit in Betracht gezogen, die seit der Transplantation vergangen ist. Hall et al. beobachteten in einem Kollektiv von pädiatrischen herztransplantierten Patienten keine Korrelation zwischen BNP und der Zeit seit der Transplantation [34]. In der vorliegenden Studie wurde der eventueller Zusammenhang in zwei Schritten untersucht, zunächst wurde das Kollektiv in vier Gruppen nach der seit der Transplantation vergangenen Zeit unterteilt und die Mittelwerte der Natriuretischen Peptide verglichen (s. Abb. 15). Hierbei zeigte sich kein eindeutiger Trend. Im zweiten Schritt wurde eine Pearson Korrelation durchgeführt; diese ergab einen Wert von $-0,009$, der einer zweiseitigen Signifikanz von 9,5% entspricht. Trotz der wahrscheinlich zunehmenden Prävalenz der Transplantatvaskulopathie [14], war eine Korrelation zwischen dem BNP-Wert und der seit der Transplantation vergangenen Zeit nicht nachweisbar. Auch Avello et al. beobachteten keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Zeit seit der Transplantation und den NT-proBNP-Werten bei herztransplantierten Patienten nach dem ersten Jahr [6]. Dieser eventueller Zusammenhang wurde auch in der vorliegenden Studie parallel zum BNP in zwei Schritten überprüft. In dem Vergleich der Mittelwerte von den vier Gruppen (eingeteilt nach Zeitintervall seit der Transplantation) zeigte sich auch hier kein Trend (Abb. 19). Die Pearson-Korrelation ergab einen Wert von $-0,007$; dieser entspricht einer zweiseitigen Signifikanz von 9,5%. Unsere Ergebnisse bestätigen somit den fehlenden Zusammenhang zwischen NT-proBNP und der seit der Transplantation vergangenen Zeit trotz der wahrscheinlich höheren Prävalenz von Trans-

plantatvaskulopathie [14] und der wahrscheinlich schlechteren Nierenfunktion [23].

4.2.7 Einfluss des Geschlechts

Östrogene bzw. das weibliche Geschlecht sind mit erhöhten BNP-Werten assoziiert [19]. Der eventueller Einfluss des Geschlechts auf die Konzentration von BNP und NT-proBNP bei transplantieren Patienten wurde in der vorliegenden Studie untersucht. Die Alternativhypothese wurde als eine Abhängigkeit des BNP bzw. NT-proBNP-Werts vom Geschlecht des Patienten definiert. Entsprechend besteht laut der Nullhypothese kein Unterschied zwischen beiden Geschlechtern. Zur Überprüfung wurden jeweils t-Tests für unabhängige Stichproben eingesetzt. Der eventuelle Einfluss des Geschlechts auf BNP bzw. NT-proBNP-Werte bei Kindern nach Herztransplantation wurde bisher in der Literatur noch nicht diskutiert. In der vorliegenden Studie wurden die Mittelwerte der Geschlechter verglichen (Tab. 3 bzw. Tab. 4). Dabei zeigten sich keine großen Unterschiede für BNP oder NT-proBNP. Die genauere Untersuchung auf Gleichheit der Gruppen ergab für BNP, bei einem t-Test mit 81 Freiheitsgraden einen Wert von -1,489, dies entspricht einer zweiseitigen Signifikanz von 14%. Und für NT-proBNP bei einem t-Test mit 80 Freiheitsgraden einen Wert von -1,235, dies entspricht einer zweiseitigen Signifikanz von 18%. Wie bei den gesunden Kindern scheint auch bei den herztransplantierten Kindern das Geschlecht keinen Einfluss auf den BNP bzw. den NT-proBNP-Wert zu haben. In einer Studie von Klingenberg et al. war das weibliche Geschlecht als unabhängiger Faktor mit höheren BNP-Werten bei herztransplantierten Patienten assoziiert [43]. In der vorliegenden Studie wurde nur eine kleine Stichprobe herztransplantierter Kinder über zwölf Jahren untersucht; damit ist allenfalls bei dieser kleinen Gruppe ein Einfluss der Pubertät und damit ein Einfluss der höheren Östrogenspiegel nicht nachgewiesen. In der Literatur findet sich keine Untersuchung von pubertären herztransplantierten Patienten und dem Einfluss des Geschlechts auf die Plasmaspiegel von Natriuretischen Peptiden.

4.2.8 Der Zusammenhang zwischen natriuretischen Peptiden und der Nierenfunktion

Bei Patienten nach pädiatrischer Herztransplantation ist eine Nierenschädigung durch das Vorwärtsversagen des Herzens vor der Transplantation, durch die Ischämie / Reperfusionsschaden während der Operation und die Behandlung mit dem nephrotoxischen Cyclosporin [42] wahrscheinlich. Von Kruse et al. wurde eine Verschlechterung der Nierenfunktion mit der Zeit-seit-der-Transplantation bei Kindern beschrieben und auf die immunsuppressive Therapie zurückgeführt [23]. Eine Korrelation von BNP bzw. NT-proBNP mit der Nierenfunktion ist in der Literatur mehrfach beschrieben [64, 75, 82]. Einige Autoren beschreiben dabei einen stärkeren Einfluss der Nierenfunktion auf das NT-proBNP [50, 82]. Palmer et. al. und van Kimmenade et. al. zeigten, dass BNP und NT-proBNP beide gleichermaßen durch die Niere ausgeschieden werden [64, 75]. Für BNP bestehen weitere Clearance-Mechanismen in anderen Organen, über Internalisierung in die Zelle und anschließendem Abbau [50, 47]. Es bleibt unklar, warum NT-proBNP stärker mit der Nierenfunktion korreliert und welche weitere Mechanismen bei dessen Clearance eine Rolle spielen [64, 75]. Es stellt sich die Frage, ob in dem Kollektiv der herztransplantierten die Nierenfunktion, gemessen an der Kreatinin-Clearance,

mit der Konzentration von BNP, NT-proBNP oder mit einem Quotienten: NT-proBNP / BNP korreliert. Für die Untersuchung dieser Zusammenhänge wurden in der vorliegenden Studie Pearson Korrelationen eingesetzt. Die Korrelation von BNP mit der Kreatinin-Clearance ergab -0,186 dies entspricht einer zweiseitigen Signifikanz von 37%, somit kann nicht von einem Zusammenhang zwischen der Nierenfunktion und der BNP Konzentration ausgegangen werden. Die Korrelation von NT-proBNP mit der Nierenfunktion ergab einen Wert von -0,342 dies entspricht einer zweiseitigen Signifikanz von 9,4%, somit konnte auch nicht von einem Zusammenhang zwischen der NT-proBNP Konzentration und der Nierenfunktion bei herztransplantierten Kindern ausgegangen werden. Der Quotient: NT-proBNP / BNP sollte für die Untersuchung eines Zusammenhangs zwischen NT-proBNP in Relation zu BNP und der Nierenfunktion besonders gut geeignet sein, da die Schwankungen in der Freigesetzten Menge von NT-proBNP durch die Division von NT-proBNP durch das äquimolar freigesetzte BNP eliminiert werden. Doch auch für diesen Quotienten ergab die Pearson Korrelation einen Wert von -0,286 mit der entsprechenden zweiseitigen Signifikanz von 16,5%, somit konnte auch hier kein Zusammenhang mit der Nierenfunktion nachgewiesen werden (Abb. 21).

Diese Untersuchungsergebnisse sprechen für einen eher schwachen Zusammenhang zwischen der natriuretischen Peptid Konzentration und der Nierenfunktion. Dies entspricht der von Vickery et al. beobachteten schlechteren Korrelation von BNP mit der Nierenfunktion bei Patienten mit Herzinsuffizienz als bei Herzgesunden [82]. Eine Überlastung der Clearance-Kapazitäten der Nieren für natriuretische Peptide bei so erhöhten Werten, könnte eine Teilerklärung für dieses Phänomen sein, weitere Untersuchungen sind jedoch nötig um diese Frage eindeutig zu klären. Weiterhin könnte die kleine Fallzahl der Patienten bei denen eine Kreatinin-Clearance erhoben wurde, eine fehlende Korrelation erklären.

4.2.9 Abstoßungsdiagnostik

Die Abstoßung ist eine der wichtigsten Komplikationen nach Herztransplantation. Im optimalen Fall kann diese noch vor dem Einsetzen der Graftdysfunktion diagnostiziert und aggressiv durch Immunsuppression behandelt werden [37]. Immer wieder wird versucht, eine Alternative für die endomyokardiale Biopsie zur Diagnosestellung einer Abstoßung zu entwickeln; trotz vieler Versuche, eine weniger invasive Methode zu entwickeln, blieb bislang jedoch die endomyokardiale Biopsie der Goldstandard in der Abstoßungsdiagnostik [15, 10]. Eine Abstoßungsreaktion beginnt mit der Erkennung der Graft-Antigene und der Rekrutierung von zytotoxischen T Lymphozyten, dann wird mit der Zytokinfreisetzung (Interferon und Tumornekrosefaktor) die Differenzierung und Proliferation von T und B Lymphozyten eingeleitet, dies führt zur Aktivierung von Makrophagen und Freisetzung von Tumornekrosefaktor α und β , Interleukin 1 und weitere Mediatoren. Diese Vorgänge münden in die Lyse von Graftzellen [1]. Es stellt sich die Frage, ob es nicht möglich ist, die an der Entstehung einer Abstoßungsreaktion beteiligten Zytokine im peripherem Blut nachzuweisen und damit noch vor dem Erreichen der maximalen Entzündungsreaktion die Diagnose zu stellen und die Abstoßung noch vor dem Auftreten von Symptomen zu therapieren [37]. Einige Studien untersuchten die Rolle von verschiedenen Zytokinen in der Diagnosestellung bzw. Vorhersage einer akuten Abstoßungsreaktion nach Herztransplantation. Grant et al. konnten keine Korrelation zwischen erhöhten Zytokinwerten im Serum und einer histologischen Abstoßungsreak-

tion zeigen [32]. Fahmy et al. zeigten eine erhöhte Expression von Zytokinen und Zytokinrezeptoren im Myokardgewebe bei einer Abstoßungsreaktion, eine erhöhte Serumkonzentration konnte nicht gezeigt werden [25]. Beide Autorengruppen führten diesen fehlenden Zusammenhang am ehesten auf die lokale Wirkung der Zytokine zurück, welche nur sehr geringe Konzentrationen benötigt [32, 25]. Karason et al. zeigten zwar eine vermehrte Transkriptionsrate von CXCL9 und in geringem Maße auch von CXCL10 in den Kardiomyozyten während einer Abstoßungsreaktion, die Serumkonzentrationen der Proteine waren jedoch nicht erhöht [39]. TNF- α und IL6 sind für einige Wochen nach einer Transplantation erhöht und fallen meist nach ca. 2 Wochen ab [1, 32]. TNF- α war deutlich erhöht bei moderaten bis schweren Abstoßungsreaktionen, der positive prediktive Wert war jedoch nicht überzeugend [1]. IL6 zeigte keine ausreichende Diskriminierung zwischen fehlender oder leichter Abstoßungsreaktion und moderater bis schwerer Abstoßungsreaktion [1]. In einer weiteren Studie war ein IL6-Wert $\leq 30\text{pg/ml}$ in 95% mit fehlender bis leichter Abstoßungsreaktion assoziiert, die Autoren schlagen vor, ggf. auf eine Endomyokardbiopsie zu verzichten [67]. Abramson et al. zeigten, dass VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) bei pädiatrischen Patienten nach Herztransplantation erhöht ist im Vergleich zu gesunden Kontrollen. Weiterhin war VEGF deutlich erhöht bei Patienten mit deutlicher histologischer Abstoßungsreaktion in der Endomyokardbiopsie [2]. Zusammenfassend sind aktuell keine zuverlässige Serummarker oder bildgebende Verfahren bekannt, welche die Endomyokardbiopsie bei der Diagnosestellung einer zellulären Abstoßung ersetzen könnten [55, 17, 39]. Wenn eine Abstoßungsreaktion schon nicht mit Hilfe von peripheren Markern diagnostiziert werden kann, stellt sich die Frage, ob durch diese Marker wenigstens eine erhöhte Wahrscheinlichkeit für eine Abstoßungsreaktion vorhergesagt werden kann. Martínez-Dolz et al. untersuchten Fibrinogen, CRP, TNF- α , IL-6 und Neuraminsäure auf diagnostischen und Vorhersagewert für eine Abstoßungsreaktion, in seriellen Untersuchungen im ersten Jahr nach einer HTX. Nur CRP zeigte einen signifikanten und anhaltenden Unterschied zwischen der Gruppe mit bzw. ohne Abstoßung [52], eine CRP Erhöhung ist jedoch wenig spezifisch und ist damit für die Diagnostik ebenfalls nicht gut geeignet.

4.2.10 Die Rolle von BNP in der Abstoßungsdiagnostik

Die Rolle von BNP in der Abstoßungsdiagnostik ist trotz einiger Untersuchungen weiterhin unklar, die Ergebnisse der Forschung sind kontrovers. Während Masters et al. bei 400 pg/ml einen „Cutoff-Wert“ setzen konnten, beobachteten Hervas et al. nur in den ersten 3 Monaten nach einer Transplantation einen Zusammenhang zwischen BNP und Abstoßungsreaktionen [53, 36]. Auch die in der vorliegenden Studie erhobenen Werte gehen nicht mit der Setzung eines klaren und für alle nach einer Transplantation beobachteten Patienten gültigen Cutoff-Wertes einher. Lindblade et al. schlagen vor, den BNP Cutoff-Wert zu individualisieren, und anhand dessen die Werte des einzelnen Patienten zu begutachten [49]. Um diese Individualisierung eines BNP Cutoff-Werts zu erreichen, wurden in der vorliegenden Studie die Mittelwerte der einzelnen Patienten herangezogen. Der BNP-Spiegel während einer Abstoßungsreaktion oder dem Verdacht auf eine Abstoßungsreaktion wurde mit dem Mittelwert vorhergehender BNP-Werte des einzelnen Patienten verglichen (Abb. 23). In einer Studie von Garrido et al. wurden serielle BNP-Messungen nach Herztransplantation durchgeführt. Es

konnte kein Cutoff-Wert für BNP etabliert werden, um Patienten mit und ohne Abstoßung zu unterscheiden; es konnte jedoch ein prozentualer Anstieg vom individuellen BNP-Mittelwert des Patienten beim Auftreten einer Abstoßung gezeigt werden [28]. In der vorliegenden Studie zeigten sich sowohl höhere als auch niedrigere Werte während der Abstoßung, bei der klassischen Betrachtung von BNP ist der niedrigere Wert nicht einfach zu erklären. Betrachtet man jedoch BNP wie von Shaw et al vorgeschlagen auch als immunmodulatorisches Element [78] so kann ein Abfall von BNP und damit eine verminderte Drosselung des Immunsystems auch als eine eventuelle Ursache für eine Abstoßungsperiode gesehen werden. Shaw et. al. zeigten in einer weiteren Studie, dass BNP zu einer Reduktion der Zellen des angeborenen Immunsystems und zu einer Herunterregulierung der zytotoxischen Marker und Zelladhäsion führt [76]. Weitere Untersuchungen werden nötig sein, um zu klären, ob das von Shaw et al. beobachtete Phänomen auf die Situation in vivo übertragbar ist. Darüber hinaus werden weitere Untersuchungen klären müssen, ob BNP wirklich ursächlich an einer Abstoßungsreaktion beteiligt ist. Ein von der kardialen Situation unabhängiger Zusammenhang von BNP mit dem Immunsystem wird durch die Erhöhung von BNP bei Erkrankungen, die mit einer starken Aktivierung des Immunsystems einhergehen wie bakterielle Sepsis, Myokardinfarkt, Apoplex, Kawasaki-Syndrom und Verbrennungen, nahegelegt. Der Anstieg um 500-700% bei einer neu aufgetretenen PTLD (Posttransplantation Lymphoproliferative Disorder) der in der vorliegenden Studie beobachtet wurde, kann evtl. auf den engen Zusammenhang zwischen BNP und dem Immunsystem zurückgeführt werden. Die Ergebnisse dieser Studie sind allerdings noch nicht geeignet, die weniger invasive BNP-Bestimmung, als Alternative für eine endomyokardiale Biopsie vorzuschlagen. Es konnte kein Cutoff-Wert für BNP etabliert werden, der Patienten mit einer Abstoßungsreaktion von denen ohne Abstoßungsreaktion unterscheiden lässt. Auch der Versuch die BNP-Schwelle für eine Abstoßung zu individualisieren, konnte keine klare Aussage über das Verhalten von BNP während einer Abstoßung liefern.

4.2.11 Die klinische Rolle von BNP und NT-proBNP bei herztransplantierten Kindern

Bei der klinischen Überwachung von Kindern nach einer orthotopen Herztransplantation müssen viele Faktoren bedacht werden. Das Einführen der T-Zell-Suppression, die erstmals mit Cyclosporin gelang, steigerte die Erfolgsraten von Transplantation erheblich [69]. Da die medikamentöse Immunsuppression nicht punktuell am transplantierten Herz angreifen kann, ist das gesamte Immunsystem durch die Medikation weniger funktionsfähig als bei gesunden Kindern. Diese Medikamente führen auch zu nicht - immunologischen Nebenwirkungen, welche das Transplantat selbst aber auch andere Organe schädigen können. In der Betreuung ist daher eine gute Kombination und genaue Dosierung der verschiedenen Medikamente unbedingt erforderlich. Bei einer zu niedrig gewählten Immunsuppression besteht das Risiko einer Abstoßungsreaktion; wird allerdings die Immunsuppression zu hoch dosiert, treten lebensgefährliche Infektionen und ein erhöhtes Risiko für die Entstehung maligner Erkrankungen auf. Die nicht-immunologischen Nebenwirkungen führen zu einer Erhöhung des Blutdrucks und damit auch der Nachlast des Herzens und zu einer Schädigung der Niere [10] [42].

4.2.12 Beeinflussung der Plasma Konzentrationen

Obwohl bei gesunden Kindern eine negative Korrelation zwischen dem Alter des Kindes und dem NT-proBNP-Wert beobachtet wurde, konnte das für die herztransplantierten Kindern nicht gezeigt werden. Sowohl für BNP als auch für NT-proBNP konnte kein Einfluss des Geschlechts, des Alters oder der Zeit nach der Transplantation nachgewiesen werden. Interessant ist auch, dass keine Korrelation mit der Nierenfunktion hergestellt werden konnte. Beide Werte können somit bei herztransplantierten Kindern beurteilt werden, ohne Beachtung des Geschlecht, des Alters, der Zeit seit der Transplantation oder der Nierenfunktion.

4.2.13 BNP und NT-proBNP als Risikoindikator für Ereignisse

Bereits unter dem Kapitel zur Abstoßungsdiagnostik wurde diskutiert, Marker zu etablieren, welche eine eventuelle Verschlechterung nicht nur diagnostizierten sondern sogar vorhersagen können. Das BNP wurde von einigen Autoren als Risikoindikator bei einer bestehenden Herzinsuffizienz diskutiert. Price et al. zeigten bei einem BNP-Wert von $\geq 300 \text{ pg/ml}$ bei Kindern mit Herzinsuffizienz, erhöhte Morbidität und Mortalität [71]. Zwei weitere Studien mit ähnlichen Kollektiven bestätigten diese Ergebnisse und setzten den Cutoff-Wert bei 290 pg/ml [18] bzw. bei 140 pg/ml [5]. Auerbach et. al. beschrieben BNP als hilfreich bei der Erkennung von pädiatrischen Patienten mit Herzinsuffizienz, bei denen ein höheres Risiko für erneute Krankenhausaufenthalte aufgrund von zunehmender Herzinsuffizienz, Lebensgefahr oder Retransplantation besteht. Sie empfehlen eine bessere Überwachung bei den Patienten mit höheren Werten [5]. Nicht nur bei der Herzinsuffizienz etabliert sich BNP als Risikoindikator. Erhöhte NT-proBNP-Werte ($> 11,500 \text{ pg/ml}$) scheinen eine schlechte Prognose bei Kindern mit Enterothorax anzudeuten [5]. Inuzuka et al. zeigten eine erhöhte Wahrscheinlichkeit für Tod oder Transplantationsnotwendigkeit bei Kindern mit univentrikulärer Zirkulation bei einem BNP-Wert von $\geq 100 \text{ pg/ml}$ [38]. Erhöhte BNP bzw. NT-proBNP-Werte nach einem Myokardinfarkt spiegeln ein erhöhtes Risiko für einen plötzlichen Herztod wieder [72, 33]. Erhöhte NT-proBNP-Werte bei Sepsis korrelieren mit erhöhter Mortalität [81]. BNP und NT-proBNP wurden als Mortalitätsindikatoren bei erwachsenen Patienten nach Herztransplantation untersucht. Avello et al. zeigten bei einem NT-proBNP Cutoff-Wert von 1000 pg/ml eine signifikante Erhöhung der Wahrscheinlichkeit von Tod innerhalb von einem Jahr bei Patienten nach Herztransplantation [6]. Mehrere Studien zeigten eine Korrelation zwischen BNP bzw. NT-proBNP und der Mortalität bei Patienten nach Herztransplantation [77]. Mehra et al. zeigten eine erhöhte Mortalität unter Patienten nach Herztransplantation bei BNP-Werten $> 250 \text{ pg/ml}$ [58]. In der vorliegenden Studie wurde erstmalig bei Kindern nach Herztransplantation der Vorhersagewert von BNP in Bezug auf Morbidität und Mortalität, bei einem BNP Cutoff-Wert von 100 pg/ml untersucht. Es zeigte sich eine Häufung von klinischen Verschlechterungen bzw. Auftreten von therapiebedürftigen Erkrankungen in der Gruppe mit erhöhtem BNP, dies spricht für BNP als Risikoindikator für klinische Instabilität. Der Mechanismus der für diese Erhöhung verantwortlich ist, konnte noch nicht isoliert werden, hier sind weitere Studien notwendig. Eine bessere Überwachung bei Patienten nach pädiatrischer Herztransplantation mit BNP-Werten über 100 pg/ml erscheint nach Ergebnissen der vorliegenden Studie sinnvoll. Eine prophylaktische Therapie kann nicht empfohlen werden.

5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde der Stellenwert von BNP und NT-proBNP als diagnostische Marker bei Kindern nach Herztransplantation untersucht. Bei einem Kollektiv gesunder Kinder jenseits der Neonatalperiode wurden BNP und NT-proBNP Messungen durchgeführt, um einen Referenzbereich für diese beiden Peptide im Kindesalter zu etablieren. In dem Kollektiv der herztransplantierten Kindern wurden 83 Patienten, die vor mindestens sechs Monaten eine Herztransplantation erhalten haben, über 17 Monate beobachtet. Die BNP-Messungen wurden mit dem ADVIA Centaur der Firma Bayer durchgeführt. NT-proBNP wurde mit dem Elecsys der Firma Roche Diagnostics gemessen. Die bestimmten BNP-Werte bei gesunden Kindern zeigten eine linksgipflige Verteilung mit einem Mittelwert von ca. 10 pg/ml. Die BNP-Werte der herztransplantierten Kindern zeigten ebenfalls eine linksgipflige Verteilung mit einem Mittelwert von ca. 88 pg/ml. Ein Vergleich mittels t-Test mit der Gruppe der gesunden Kinder zeigte einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen. Die bestimmten NT-proBNP-Werte bei gesunden Kindern zeigten ebenfalls eine linksgipflige Verteilung mit einem Mittelwert von ca. 66 pg/ml. Die NT-proBNP-Werte der herztransplantierten Kindern zeigten auch eine linksgipflige Verteilung mit einem Mittelwert von ca. 912 pg/ml. Der Vergleich mittels t-Test zeigte hier ebenfalls einen signifikanten Unterschied der beiden Gruppen. Der Einfluss von Alter und Geschlecht auf BNP und NT-proBNP wurde untersucht. Es konnte nur eine Korrelation des NT-proBNPs mit dem Alter bei gesunden Kindern gezeigt werden. Es bestand keine weitere Korrelation mit dem Alter oder dem Geschlecht bei gesunden oder herztransplantierten Kindern. Als eventuelle Fehlerquelle muss hier die kleine Stichprobe der Kinder älter als zwölf Jahre erwähnt werden. Weitere Untersuchungen zum Einfluss der Pubertät bzw. des Geschlechts nach der Pubertät auf BNP und NT-proBNP-Werten bei gesunden und herztransplantierten Kindern sollten noch durchgeführt werden. BNP und NT-proBNP zeigten keine Relevanz in der Abstoßungsdiagnostik oder in der Vorhersage von Abstoßungen. Das Kollektiv der herztransplantierten Kindern wurde nach dem initialen BNP-Wert in zwei Gruppen unterteilt: $BNP \leq 100 \text{ pg/ml}$ und $BNP > 100 \text{ pg/ml}$, der Cutoff-Wert wurde analog zu dem Grenzwert für die Diagnose einer Herzinsuffizienz beim Erwachsenen gewählt. Es wurde die Häufigkeit des Auftretens von „Events“ (klinische Verschlechterung, die einer Therapie bedarf) in diesen beiden Gruppen untersucht. Es zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied in der klinischen Stabilität zwischen den beiden Gruppen. In der Gruppe mit initialem BNP über 100 pg/ml konnte eine statistisch signifikante Häufung von „Events“ gezeigt werden. Es sind weitere Untersuchungen nötig um den Grund für diese Konstellation genauer zu untersuchen. Eine intensivere Überwachung bei Patienten nach pädiatrischer Herztransplantation mit BNP-Werten über 100 pg/ml erscheint nach Ergebnissen der vorliegenden Studie sinnvoll. Eine prophylaktische Therapie kann nach diesen Ergebnissen nicht empfohlen werden.

6 Abstract

This dissertation examines the role of BNP and NT-proBNP as diagnostic markers in children who underwent a heart transplantation. The first step was to examine a group of healthy children, in order to establish a normal range for this peptides in childhood. In a second step 83 children who underwent a heart transplantation at least six month prior to the begin of the study were observed for 17 month. BNP was measured using the ADVIA Centaur, this is a fully automated two-site sandwich immunoassay. NT-proBNP was measured using the Elecsys, also a fully automated sandwich immunoassay. The possible influence of age and gender on BNP and NT-proBNP values was examined. The correlation between BNP and NT-proBNP was analyzed. In a second step the results of healthy children were compared with those of the children who underwent a heart transplantation. The BNP and NT-proBNP levels of the children who underwent a heart transplantation were also correlated with the time that has passed since the transplantation. Furthermore the changes in BNP during rejection or clinical worsening were reviewed. The BNP values measured in healthy children showed a distribution with positive skewness and a mean value of 10 pg/ml. The BNP values measured in children who underwent a heart transplantation also showed a distribution with positive skewness, here the mean value was 88 pg/ml. The correlation using t-Test showed a significant difference between the two groups. The NT-proBNP values measured in healthy children showed a distribution with positive skewness and a mean value of 66 pg/ml. The measured values in children after heart transplantation showed a distribution with positive skewness and a mean value of 912 pg/ml. The correlation with t-Test showed as in BNP values a significant difference between the two groups. The influence of age on BNP and NT-proBNP could only be shown in a significant correlation between age and NT-proBNP values in healthy children. There was no significant correlation between BNP or NT-proBNP and the children's gender. As a possible source of error the small number of children over the age of twelve should be mentioned. Further studies to examine the influence of puberty on BNP an NT-proBNP appear sensible. There was no correlation between BNP or NT-proBNP and rejection of the transplanted heart nor could these values predict a rejection. According to the initial measurement of BNP the group of children after heart transplantation was divided into two groups: $BNP \leq 100pg/ml$ and $BNP > 100pg/ml$. The cutoff value was chosen analogue to the cutoff value for diagnosing heart failure in adults. „events“ were defined as new onset of a clinical condition or worsening of a pre existing clinical condition requiring therapy. The frequency of „events“ was compared in both sub groups. A significant difference in clinical stability was established between the two patient sub groups. There were significantly more clinical „events“ in the group with $BNP > 100pg/ml$. Further investigations are required to determine the reason for this phenomenon. Closer monitoring of patient after heart transplantation with elevated BNP levels seem reasonable. Prophylactic therapy cannot be recommended.

Abkürzungsverzeichnis

ACE	angiotensin converting enzyme
ANP	atrial natriuretic peptide
BMI	Body Mass Index
BNP	brain natriuretic peptide / B-type natriuretic peptide
cGMP	cyclisches Guanosinmonophosphat
CMV	Zytomegalie-Virus
CNP	C-type natriuretic peptide
CoS	Costimulation
DNP	D-type natriuretic peptide
Ea	effective arterial elastance
ECHO	Echokardiographie
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
Ees	End systolic elastance
EIA	Enzym-Immuno-Assay
EKG	Elektrokardiogramm
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
HLA	humane Leukozytenantigene
HWZ	Halbwertszeit
ISHLT	International Society for Heart and Lung Transplantation
KHK	Koronare Herzkrankheit
LV	Linksventrikulär
LVEF	Linksventrikuläre Ejektionsfraktion
MEIA	Mikropartikel-Enzym-Immuno-Assay
MHC	Major Histocompatibility Complex
NEP	Neutrale Zink-abhängige Endopeptidase

NPR Natriuretische Peptid Rezeptoren

NPRA Natriuretischer Peptid Rezeptor A

NPRB Natriuretischer Peptid Rezeptor B

NPRC Natriuretischer Peptid Rezeptor C

NSTEMI Nicht-ST-Strecken-Elevations-Myokardinfarkt

NT-ProBNP N-Terminales Pro BNP

NYHA I-IV Einteilung der Herzinsuffizienz nach der New York Heart Association

PAP Pulmonary artery pressure

PCWP Pulmonary Capillary Wedge Pressure

POC point-of-care

PTLD post-transplant lymphoproliferative disorder

RAAS Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems

RIA Radio Immuno Assay

Abbildungsverzeichnis

1	Stimulationen für die Synthese von BNP. Entnommen aus [31]	2
2	Unterteilung nach der Zeit seit der Transplantation	17
3	Unterteilung nach Events	18
4	Altersverteilung: Gesunde Kinder	25
5	Normalwerte von BNP bei Kinder	26
6	Altersbezogene Mittelwerte von BNP bei gesunden Probanden	27
7	NT-proBNP Normalwerte bei Kindern	29
8	Altersbezogene Mittelwerte von NT-proBNP bei gesunden Probanden	29
9	Lineare Regression von BNP in Abhängigkeit von NT-proBNP bei gesunden Kindern	31
10	Altersverteilung: Kinder nach orthotoper Herztransplantation	32
11	Jahre seit der Transplantation	33
12	Verteilung der BNP-Mittelwerte bei Kindern nach orthotoper Herztransplantation	34
13	BNP der gesunden Kinder (A) und der herztransplantierten Patienten (B) im Vergleich	35
14	Altersbezogene Mittelwerte der herztransplantierten Patienten	35
15	Mittelwerte von BNP bezogen auf die Zeit seit der Transplantation	37
16	Verteilung der NT-proBNP-Mittelwerte bei Kindern nach orthotoper Herztransplantation	38
17	NT-proBNP gesunder Kinder (A) und herztransplantierter Patienten (B)	39
18	Altersbezogene NT-proBNP-Mittelwerte herztransplantierter Patienten	40
19	Mittelwerte von NT-proBNP bezogen auf die Zeit seit der Transplantation	41
20	Lineare Regression von BNP in Abhängigkeit von NT-proBNP bei herztransplantierten Kindern	43
21	Quotient aus NT-proBNP und BNP als Funktion der Kreatinin-Clearance	44
22	Prozentuale Abweichung des BNP-Wertes beim Event vom Mittelwert des Patienten	46
23	Prozentuale Abweichung des BNP-Wertes bei einer Abstoßungsreaktion bzw. beim Verdacht auf Abstoßung, vom Mittelwert des Patienten	46
24	Darstellung des Event freien Überleben in den Gruppen getrennt durch den initialen cutoff Wert von BNP = 100 pg/ml	48
25	Mittelwerte der mittleren BNP-Werte eingeteilt nach der Anzahl der Events	49
26	Mittelwerte der BNP-Werte eingeteilt nach der Anzahl der kardialen Events	50
27	Standardabweichungen der beiden Gruppen (A) $BNP_{initial} \leq 100pg/ml$ (B) $BNP_{initial} > 100pg/ml$	51
28	Mittlere Standardabweichung nach der Anzahl der Events	51

Tabellenverzeichnis

1	BNP Normalwerte in Abhängigkeit vom Geschlecht	28
2	NT-proBNP Normalwerte in Abhängigkeit vom Geschlecht	30
3	BNP-Mittelwerte transplantierte Kinder in Abhängigkeit vom Geschlecht . .	37
4	NT-proBNP-Werte transplantierte Kinder in Abhängigkeit vom Geschlecht .	42

Literatur

- [1] A.N. Abdallah, M.A. Billes, Y. Attia, C. Doutremepuich, A. Cassaigne, and A. Iron. Evaluation of plasma levels of tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 as rejection markers in a cohort of 142 heart-grafted patients followed by endomyocardial biopsy. *European Heart Journal*, 18:1024–1029, 1997.
- [2] L. Abramson, E. Pahl, L. Huang, V. Stellmach, S. Rodgers, C. Mavroudis, C.L. Backer, R. Arensman, and S. E. Crawford. Serum vascular endothelial growth factor as a surveillance marker for cellular rejection after pediatric cardiac transplantation. *Transplantation*, 73(1):153–156, 2002.
- [3] P. Ambrosi, C. Oddo, A. Riberi, S. Argus, H. Portugal, D. Metras, and G. Habib. Usefulness of n-terminal-pro-brain natriuretic peptide levels in predicting survival in heart transplant recipients. *The American Journal of Cardiology*, 94, 2004.
- [4] M.A. Aranu-Vives, L. Almenar, I. Hervás, A. Osa, L. Martínez-Dolz, J. Rueda, E. Zorio, L. Der Urbina Martínez-Oritz, J. L. Pérez, A. Mateo, and M. Palencia. Predictive value of brain natriuretic peptide in the diagnosis of heart transplant rejection. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*, 23, 2004.
- [5] S. R. Auerbach, M. E. Richmond, J. M. Lamour, E. D. Blume, L. J. Addonizio, R. E. Shaddy, L. Mahony, E. Pahl, and D. T. Hsu. Bnp levels predict outcome in pediatric heart failure patients: Post hoc analysis of the pediatric carvedilol trial. *Circulation*, 3:606–611, 2010.
- [6] N. Avello, B. Prieto, B. D. Molina, B. D. Rodrigues-Lambert, and F. V. Álvarez. Clinical utility of nt-probnp levels in late heart transplantation patients. *Clinica Chimica Acta*, 411:161–166, 2010.
- [7] E. Avner, W. Harmon, P. Niaudet, and Yoshikawa N. *Pediatric Nephrology Sixth Edition*. Springer Verlag Berlin Heidelberg, 2009.
- [8] Banner, Thomas, Curnow, Hussey, Rogers, and Bonser. Importance of cold and warm cardiac ischemia for survival after heart transplantation. *Transplantation*, 86:542 – 547, 2008.
- [9] Behrman, Kliegman, and Jenson. *Nelson Textbook of Pediatrics 17th Edition*. Saunders An Imprint of Elsevier, 2004.
- [10] E. D. Blume. Current status of heart transplantation in children: update 2003. *The Pediatric Clinician of North America*, 50:1335–1374, 2003.
- [11] J. Bortz. *Statistik für Human- und Sozialwissenschaftler*. Springer Verlag, 2005.
- [12] J. Braun and A. Dormann. *Klinikeitfaden Innere Medizin*. Urban & Fischer Verlag, 2001.

- [13] C. Bruch, C. Fischer, J. Sindermann, J. Stypmann, G. Breithardt, and R. Gradaus. Comparison of the prognostic usefulness of n-terminal-pro-brain natriuretic peptide in patients with heart failure with versus without chronic kidney disease. *The American Journal of Cardiology*, 102 (4):469 – 474, 2008.
- [14] H. P. Bruch and O. Trentz. *Chirurgie*. Elsevier Urban & Fischer Verlag, 2008.
- [15] J.M Chen. „take another little piece of my heart now“: Should endomyocardial biopsy remain the gold standard? *Transplantation*, 85:934, 2008.
- [16] I. Claudius, Y. Lan, R. Chang, G.T. Wetzel, and J. Alejos. Usefulness of b-type natriuretic peptide as a noninvasive screening tool for cardiac allograft pathology in pediatric heart recipients. *The American Journal of Cardiology*, 92, 2003.
- [17] C. Crescioli, A. Buonamano, S. Scolletta, M. Sottili, M. Francalanci, P. Giomarelli, B. Biagioli, G. Lisi, F. Pradella, M. Serio, P. Romagnani, and M. Maccherini. Predictive role of pretransplant serum cxcl10 for cardiac acute rejection. *Transplantation*, 87 (2):249–255, 2009.
- [18] D.D. Das. Plasma b-type natriuretic peptides in children with cardiovascular diseases. *Pediatric Cardiology*, 31:1135–1145, 2010.
- [19] S. R. Das, M.H. Drazner, D.L. Dries, G.L. Vega, H.G. Stanek, S.M. Abdullah, R.M. Canham, A.K. Chung, D. Leonard, Wians F.H. Jr, and J.A. de Lemos. Impact of body mass and body composition on circulating levels of natriuretic peptides: Result from the dallas heart study. *Circulation*, 112:2163–2168, 2005.
- [20] G. K. Davis, F. Bamforth, A. Sarpal, F. Dicke, Y. Rabi, and M.E. Lyon. B-type natriuretic peptide in pediatrics. *Clinical Biochemistry*, 39:600–605, 2006.
- [21] C. de Sylos, E. Azeka, L. Kajita, L. Benvenuti, C. Cassaro Strunz, K. Castello Branco, A. Almeida Riso, C. Tanamati, M. Jatene, and M. B. Marcial. B-type natriuretic peptide assessment in the diagnosis of rejection after pediatric heart transplant. *Arquivos brasileiros de cardiologia*, 92 (3):215–26, 2009.
- [22] R. Delgado, Y. Wadia, B. Dar, W. Ethridge, A. Zewail, T. Pool, T.J Myers, N. Scroggins, and O.H Fraizer. Role of b-type natriuretic peptide and effect of nesiritide after total cardiac replacement with the abiocor total artificial heart. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*, 24, 2005.
- [23] C. Duhn Kruse, M. Helvind, T. Jensen, F. Gustafsson, S. A. Mortensen, and H. O. Andersen. Good long-term survival after paediatric heart transplantation. *Danish Medical Journal*, 59(1), 2012.
- [24] Afif El-Khuffash and Eleanor J Molloy. Are b-type natriuretic peptide (bnp) and n-terminal-pro-bnp useful in neonates? *Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition*, 92:F320–F324, 2007.

- [25] N. M. Fahmy, M. H. Yamani, R. C. Starling, N. B. Ratliff, J. B. Young, J. McCarthy, P. M. Feng, A. C. Novick, and R. L. Fairchild. Chemokine and chemokine receptor gene expression indicates acute rejection of human cardiac transplants. *Transplantation*, 75:72–78, 2003.
- [26] Fahrmeir, Künstler, Pigeot, and Tutz. *Statistik*. Springer Verlag, 2004.
- [27] W.-G. Forssmann, R. Richter, and M. Meyer. The endocrine heart and natriuretic peptides: histochemistry, cell biology, and functional aspects of the renal urodilatin system. *Histochemistry and Cell Biology*, 110:335–357, 1998.
- [28] I. P. Garrido, D. A. Pascual-Figal, Nicolás F., S. González-Carrillo, M. J. and Manzano-Fernández, J. Sánchez-Mas, and Valdés-Chavarri M. Usefulness of serial monitoring of b-type natriuretic peptide for the detection of acute rejection after heart transplantation. *The American Journal of Cardiology*, 103:1149–1153, 2009.
- [29] M. Geiger, D. Harake, N. Halnon, J. Carlos, Alejos, and D. S. Levi. Screening for rejection in symptomatic pediatric heart transplant recipients: The sensitivity of bnp. *Pediatric Transplantation*, 12:563–569, 2008.
- [30] B. Geny, M. Follenius, E. Epailly, A. Charpentier, G. Brandenberger, B. Eisenmann, P. Haberey, and F. Piquard. Transient reduction without normalization of brain natriuretic peptide early after heart transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 115:473–5, 1998.
- [31] J.P Goetze, A. Gore, G.H Moller, D.A Steinbrüchel, J.F Rehfeld, and L.B Nielsen. Acute myocardial hypoxia increases bnp gene expression. *FASEB*, 18, 2004.
- [32] S. Grant, W.R. Lamb, N.H Brooks, P. Brenchley, and I. Hutchinson. Serum cytokines in human heart transplant recipients: is there a relationship to rejection? *Transplantation*, 62(4):480–491, 1996.
- [33] C. Hall. Nt-probnp: The mechanism behind the marker. *Journal of Cardiac Failure*, 11 (5 Suppl.):81–83, 2005.
- [34] E. K. Hall, A. C. Glatz, M. D. Quartermain, C. Ravishankar, B. Kaufman, M. S. Cohen, B. D. Hanna, and D. J. Goldberg. Brain-type natriuretic peptide correlates with right heart pressures in a cross section of pediatric heart transplant patients. *Pediatric Transplantation*, 15:70–74, 2011.
- [35] I. Hervas, L. Almenaaar, J.L Pere-Passtor, M. Chirivella, A. Osa, P. Marinez-Dolz, L. and Bello, J.F Marti, M.A Arau, F. Vera, J. Rueda, M. Palencia, and A. Mateo. Radioimmunoassay of b-type natriuretic peptide (bnp) in heart transplantation: correlation between bnp determinations and biopsy grading of rejection. *Nuclear Medicine Communications*, 24, 2003.
- [36] I. Hervas, M.A Aranu, L. Almenaaar, J.L Pere-Passtor, M. Chirivella, J. Osa, P. Bello, A. Osa, J.F Marti, F. Vera, and A. Mateo. Ventricular natriuretic peptide (bnp) in heart

transplantation: Bnp correlation with endomyocardial biopsy, laboratory and hemodynamic measures. *Laboratory Investigation*, 84:138 – 145, 2004.

- [37] P.A. Horwitz, E.J. Tsai, M.E. Putt, J.M. Gilmore, J.J. Lepore, M.S. Parmacek, A. C. Kao, S.S. Desai, L.R. Goldberg, S.C. Brozena, M. L. Jessup, J. A. Epstein, and T. P. Cappola. Detection of cardiac allograft rejection and response to immunosuppressive therapy with peripheral blood gene expression. *Circulation*, 110:3815–3821, 2004.
- [38] R. Inuzuka, S. Tatebe, S. Wakiguchi, H. Nakajima, H. Ohtsu, K. Dimopoulos, and H. Aotsuka. B-type natriuretic peptide at the early stage of univentricular circulation reflects inadequate adaptation to volume overload. *International Journal of Cardiology*, 2011.
- [39] K. Karason, M. Jernas, D. A Hägg, and P.-A. Svensson. Evaluation of cxcl9 and cxcl10 as circulating biomarkers of human cardiac allograft rejection. *BMC Cardiovascular Disorders*, 6, 2006.
- [40] Keck and Hausdorf. *Pädiatrische Kardiologie*. Urban & Fischer Verlag, 2002.
- [41] W. Kirchhoff, R. Gradaus, J. Stypmann, M.C. Deng, T.D.T Tian, H.H. Scheld, G. Breithardt, and B. Brisse. Vasoactive peptides during long-term follow-up of patients after cardiac transplantation. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*, 23:284–288, 2004.
- [42] R. Kirk, L.B. Edward, P. Aurora, D.O. Taylor, J. Christie, F. Dobbels, A.Y. Kucheryavaya, A.O. Rahmel, and M.I. Hertz. Registry of the international society for heart and lung transplantation: Eleventh official pediatric heart transplantation report-2008. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*, 27 Nr. 9:970 – 977, 2008.
- [43] R. Klingenberg, A. Koch, C. Gleissner, P.A Schnabel, M. Haass, A. Remppis, H.A Katus, and T.J Dengler. Determinants of b-type natriuretic peptide plasma levels in the chronic phase after heart transplantation. *Transplant International*, 18, 2005.
- [44] A. Koch and H. Singer. Normal values of b type natriuretic peptide in infants, children, and adolescents. *Heart*, 89:875.878, 2003.
- [45] A.M.A. Koch, M. Rauh, S. Zink, and H Singer. Decreasing ratio of plasma n-terminal pro-b-type natriuretic peptide and b-type natriuretic peptide according to age. *Acta Paediatrica*, 95:805–809, 2006.
- [46] P. Kroll, M.H. Srisawasdi. The clearance of bnp modeled using the nt-probnp-bnp relationship. *BioSystems*, 88:147–155, 2007.
- [47] M. Kuhn. Molecular physiology of natriuretic peptide signalling. *Basic Research in Cardiology*, 99:No. 2, 2004.
- [48] Y-T. Lan, R.-K. Chang, J. C. Alejos, C. Burch, and G.T. Wetzel. B-type natriuretic peptide in children after cardiac transplantation. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*, 23:558–563, 2004.

- [49] C.L Lindblade, D.S Chun, R.K. Darragh, R.L. Caldwell, D.J. Murphy, and M.S. Schamberger. Value of plasma b-type natriuretic peptide as a marker for rejection in pediatric heart transplant recipients. *The American Journal of Cardiology*, 95, 2005.
- [50] Louis, Bolanos, and Cea. Natriuretic peptide family: New aspects. *Curr. Med. Chem - Cardiovascular & Hematological Agents*, 3:2, 2005.
- [51] J. Mair. Role of cardiac natriuretic peptide testing in heart failure. *Clinical Chemistry*, 48:977–978, 2002.
- [52] L. Martinez-Dolz, L. Almenaaar, Reganon E., Vila V., Sánchez-Soriano R., Martinez-Sales V., Moro J., Sánchez-Lázaro I., and Salvador A. What is the best biomarker for diagnosis of rejection in heart transplantation? *Clinical Transplantation*, 23:672–680, 2009.
- [53] Masters, Davies, Veinot, Hendry, Smith, Stuart, and de Bold. Discoordinate modulation of natriuretic peptides during acute cardiac allograft rejection in humans. *Circulation*, 100:287 – 291, 1999.
- [54] P.A. McCullough and K.R. Sandberg. Sorting out the evidence on natriuretic peptides:. *Reviews in Cardiovascular Medicine*, 4:Suppl. 4, 2003.
- [55] M. Mehra, P. Uber, W. Uber, M. Park, and R. Scott. Anything but a biopsy: noninvasive monitoring for cardiac allograft rejection. *Current Opinion in Cardiology*, 17:131–136, 2002.
- [56] M. R. Mehra, P. A. Uber, M.H. Park, H.O. Ventura, and R.L. Scott. Corticosteroid weaning in the tacrolimus and mycophenolate era in heart transplantation: Clinical and neurohormonal benefits. *Transplantation Proceedings*, 36, 2004.
- [57] M.R. Mehra, R.V. Milani, M.B. Richie, P.A. Uber, M.H. Park, H.O. Ventura, R.L. Scott, and C.J. Lavie. Ventricular-vascular uncoupling increases expression of b-type natriuretic peptide in heart transplantation. *Transplantation Proceedings*, 36, 2004.
- [58] M.R Mehra, P.A. Uber, S. Potlurri, H.O. Ventura, R.L. Scott, and M.H. Park. Usefulness of an elevated b-type natriuretic peptide to predict allograft failure, cardiac allograft vasculopathy, and survival after heart transplantation. *The American Journal of Cardiology*, 94, 2004.
- [59] T. S. Mir, S. Marohn, S. Læer, M. Eiselt, O. Grollmus, and J. Weil. Plasma concentrations of n-terminal pro-brain natriuretic peptide in control children from the neonatal to adolescent period and in children with congestive heart failure. *Pediatrics*, 110:e76, 2002.
- [60] T.S. Mir, M. Flato, J. Falkenberg, M. Haddad, R. Budden, J. Weil, S. Albers, and Laer. S. Plasma concentrations of n-terminal brain natriuretic peptide in healthy children, adolescents, and young adults: Effect of age and gender. *Pediatric Cardiology*, 27:73–77, 2006.

- [61] A. Nir, A. Lindinger, M. Rauh, B. Bar-Oz, S. Laer, L. Schwachtgen, A. Koch, Falkenberg J., and T.S. Mir. Nt-pro-b-type natriuretic peptide in infants and children: Reference values based on combined data from four studies. *Pediatric Cardiology*, 30:3–8, 2009.
- [62] T. Ogawa, J. P. Veinot, R. A. Davies, H. Haddad, S. J. Smith, R.G. Masters, P. J. Hendry, R. Starling, M. Kuroski de Bold, A. Ponce, K.K. Ma, K. Williams, and A.J. de Bold. Neuroendocrine profiling of humans receiving cardiac allografts. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*, 24:1046–1054, 2005.
- [63] J. O. O'Neill, A. T. Merae, R. W. Troughton, K. Ng, D. O. Taylor, M. H. Yamani, J. B. Young, and R. C. Starling. Brain natriuretic peptide levels do not correlate with acute cellular rejection in de novo orthotopic heart transplant recipients. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*, 24:416–420, 2005.
- [64] S.C. Palmer and A. M. Richards. Does renal clearance differ between the b-type natriuretic peptides (bnp versus nt-probnp). *Journal of the American College of Cardiology*, 53(10):891–892, 2009.
- [65] M. H. Park, P. A. Uber, R. L. Scott, and M. R. Mehra. B-type natriuretic peptide in heart transplantation: An important marker of allograft performance. *Heart Failure Reviews*, 8:359–363, 2003.
- [66] M.H. Park, R.L. Scott, P.A. Uber, B.C. Harris, R. Chambers, and M.R. Mehra. Usefulness of b-type natriuretic peptide levels in predicting hemodynamic perturbation after heart transplantation despite preserved left ventricular systolic function. *The American Journal of Cardiology*, 90, 2002.
- [67] F. Perez-Villa, B. Benito, M. Llancaqueo, A. Cuppoletti, and E. Roig. Elevated levels of serum interleukin-6 are associated with low grade cellular rejection in patients with heart transplantation. *Transplantation Proceedings*, 38:3012–3015, 2006.
- [68] P. Pervanidou, A. Akalestos, S. Sakka, C. Kanaka-Gantenbein, I. Papassotiriou, and G.P. Chrousos. Gender dimorphic associations between n-terminal pro-brain natriuretic peptide, body mass index and blood pressure in children and adolescents. *Hormone Research in Paediatrics*, 73:341–348, 2010.
- [69] B.A. Pietra. Transplantation immunology 2003: simplified approach. *The Pediatric clinics of North America*, 50, 2003.
- [70] D. Labor Dr. Gärtner Plonne. Fachinformation: Kardiologie natriuretische peptide. 2003.
- [71] J. F Price, A. K. Thomax, M. Grenier, B. W. Eidem, E. O'Brian Smith, J. A. Denfield, S. W. Tobwin, and W. J. Dreyer. B-type natriuretic peptide predicts adverse cardiovascular events in pediatric outpatients with chronic left ventricular systolic dysfunction. *Circulation*, 114:1063–1069, 2006.

- [72] A. Rashidi and D. S. Adler. Brain natriuretic peptide as a predictor of sudden cardiac death in patients with myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*, 44 (7):1528–1529, 2004.
- [73] M. Rauh and A Koch. Plasma n-terminal pro-b-type natriuretic peptide concentraions in a control population of infants and children (letter to the editor). *Clinical Chemistry*, 49 (10):1563–4, 2003.
- [74] P. Reuter. *Springer Lexikon Medizin*. Springer Verlag, 2004.
- [75] R. J. Roland, J.L. van Kimmenade, J.A. Januzzi, A.J. Bakker, R. Houben, A.A. Rennenberg, H.J. Kroon, M.P. Crijns, P.W. van Dieijen-Visser, Y. de Leeuw, and M. Pinto. Renal clearance of b-type natriuretic peptide and amino terminal pro-b-type natriuretic peptide. *Journal of the American College of Cardiology*, 53(10):884–890, 2009.
- [76] S. M. Shaw, W. R. Critchley, C. M. Puchalka, S. G. Williams, N. Yonan, and J. E. Fildes. Brain natriuretic peptide induces cd8+ cell death via a caspase 3 associated pathway - implications following heart transplantation. *Transplant Immunology*, 26:119–122, 2012.
- [77] S. M. Shaw, J. Fildes, N. Yonan, and S. G. Williams. Does brain natriuretic peptide interact with the immune system after cardiac transplantation? *Transplantation*, 84 (11):1377–1381, 2007.
- [78] S. M. Shwa, J. E. Fildes, C. M. Puchalka, M. Basith, N Yonan, and S. G. Williams. Bnp directly immuoregulates the innate immune system of cardiac transplant recipients in vitro. *Transplant Immunology*, 20, 2008.
- [79] W.H. Tang, K. Philip, S. L. Hazen, C. E. Stevenson, M. Pepoy, S. Neale, G. S. Francis, F. Van Lente, A. Smith, and A. H.B. . Wu. Comperative sensitivities between different plasma b-type natriuretic peptide assays in patients with minimally symptomatic heart failure. *Clinical Cornerstone - The role of cardiac markers in ACS and CHF*, 7:Supplement 1.
- [80] G. Therapondos, A. D. Flapan, M. M. Dollinger, O. J. Garden, J. N. Plevris, and P.C. Hayes. Cardiac function after orthotopic liver transplantation and the effects of immunosuppression: A prospective randomized trial comparing cyclosporin (neoral) and tacrolimus. *Liver Transplantation*, 8 (Aug):690–700, 2002.
- [81] M. Varpula, K. Pulkki, S. Karlsson, E. Ruokonen, and V. Pettilä. Predicitive value of n-terminal pro-brain natriuretic peptidein severe sepsis and septic schock. *Critical Care Medicine*, 35:1277–1283, 2007.
- [82] S. Vickery, C. P. Price, R. I. John, N. A. Abbas, M. C. Webb, M. E. Kempson, and E. J. Lamb. B-type natriuretic peptide (bnp) and amino-terminal probnp in patients with ckd: Relationship to renal function and left ventricular hypertrophy. *American Journal of Kidney Diseases*, 46 (4):610–620, 2005.

- [83] A. H. Wu, M. L. Johnson, K. D. Aaronson, D. Gordon, D. B. S. Dyke, and T. M. Koelling. Brain natriuretic peptide predicts serious cardiac allograft rejection independent of hemodynamic measurements. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*, 24:52–57, 2005.
- [84] P. Zöfel. *Statistik verstehen*. Addison-Wesley, 2002.

Erklärung zur Dissertation

“Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der “Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Die vorgelegte Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

Ort, Datum

Unterschrift

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen danken, die mich in der Zeit meiner Promotion begleitet und unterstützt haben.

Ganz besonderes möchte ich mich bei meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Norbert Katz, bedanken. Er stand mir als Ansprechpartner stets zur Verfügung und unterstützte mich durch hilfreiche Anregungen und lehrreiche Besprechungen.

Weiterhin danke ich Herrn Prof. Dr. Dietmar Schranz und der gesamten Abteilung der Kinderkardiologie der Universitätsklinik Gießen für die enge und gute Zusammenarbeit.

Ein weiterer Dank geht an Frau Dr. Giffhorn-Katz, die mir bei der praktischen Durchführung und Planung dieser Dissertation geholfen hat.

Ebenso danke ich den Mitarbeitern des Instituts für klinische Chemie der Universitätsklinik Gießen, für die Unterstützung bei der Durchführung der BNP- und NT-proBNP-Bestimmungen.

Ein ganz besonderer Dank geht an Dr. Itamar Zvik, der mich in Fragen der Statistik ausführlich beraten hat und sich viel Zeit genommen hat, mich bei der statistischen Auswertung zu unterstützen.